

Entwicklung fluoreszierender Kronenether-Aminosäuren und deren Anwendung in der Aminosäure- und Peptiderkennung

Dissertation

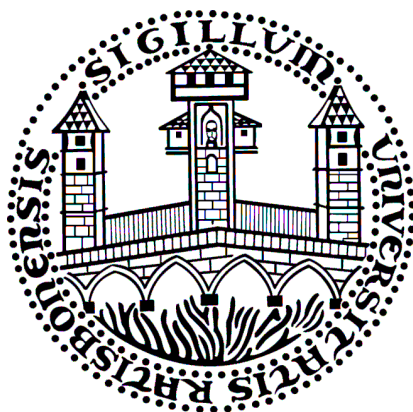
Zur Erlangung des Doktorgrades der Naturwissenschaften

(Dr. rer. nat.)

der naturwissenschaftlichen Fakultät IV

– Chemie und Pharmazie –

der Universität Regensburg



vorgelegt von

Christian Peter Mandl

aus Straubing

2004

Diese Arbeit entstand in der Zeit von Februar 2001 bis April 2004 am Lehrstuhl für Organische Chemie der Universität Regensburg unter Anleitung von *Prof. Dr. B. König*.

Das Promotionsgesuch wurde eingereicht am: 21.04.2004

Das Kolloquium fand statt am: 07.05.2004

Prüfungsausschuß:	Prof. Dr. H.-H. Kohler	(Vorsitzender)
	Prof. Dr. B. König	(Erstgutachter)
	Prof. Dr. O. Reiser	(Zweitgutachter)
	Prof. Dr. C. Steinem	

Für

Sarah,

Ulrike & Annette

und meine Eltern

Danksagung

Mein besonderer Dank gilt Herrn Prof. Dr. B. König für die Überlassung des spannenden und vielseitigen Themas. Ich möchte mich speziell für die gewährte Freiheit in der Forschung und das stets mit Anregung und Diskussionen verbundene Interesse an meiner Arbeit bedanken.

Dem Graduiertenkolleg „Medizinische Chemie“ und der ESF danke ich für die Gewährung von Reisemitteln.

Den Mitarbeitern der Zentralen Analytik der Fakultät für Chemie und Pharmazie danke ich für die schnelle und gewissenhafte Durchführung der analytischen Messungen. Insbesondere Herrn Dr. T. Burgemeister, Herrn F. Kastner, Frau N. Pustet, Frau A. Schramm und Frau G. Stühler für die Aufnahme der NMR-Spektren, Herrn Dr. K. K. Mayer, Herrn J. Kiermaier und Herrn W. Söllner für die Messung der Massenspektren, Herrn G. Wandinger, Frau S. Stempfhuber und Herrn H. Schüller für die Elementaranalysen und für die Durchführung der Röntgenstrukturanalysen Frau S. Stempfhuber und Herrn Dr. M. Zabel.

Frau E. Liebl, Herrn Dr. W. Braig, Frau Dr. C. Braig, Frau H. Leffler-Schuster und allen übrigen Festangestellten des Lehrstuhls König danke ich für ihre Unterstützung.

Allen jetzigen und früheren Mitarbeitern des Lehrstuhls danke ich für das sehr angenehme Arbeitsklima und das noch bessere Klima nach Feierabend. Besonders bedanken möchte ich mich bei allen Köchen für die erlebten Gaumenfreuden, Dr. M. Klein für das Aufwerten meines Wohnortes Oberisling, Dr. K. Cernovska und Dr. R. Cibulka für die Organisation der Tage in Prag und C. Bonauer und G. Imperato für die Organisation der Skiausflüge.

Ein Danke an M. Kruppa, C. Bonauer und S. Miltschitzky für die vielen anregenden fachlichen und fachfremden Diskussionen (auch zu späterer Stunde), an M. Kruppa und C. Bonauer für das Korrekturlesen meiner Arbeit und an Dr. V. Kozhevnikov, M. Kruppa und S. Miltschitzky für die gute Zusammenarbeit in verschiedenen gemeinsamen Projekten.

Bei meinen Kollegen aus dem Studium möchte ich mich für die schöne Studentenzeit in Regensburg bedanken. Für das häufige Verkürzen meiner Nachtruhe danke ich insbesondere Dr. M. Eberwein, S. Braun, M. Seitz, C. Bonauer, B. Weidgans, Dr. M. Klein und Dr. F. Hausmann.

Vielen Dank an C. Bonauer für mehr als 4 schöne Jahre gemeinsam im Labor.

Bedanken möchte ich mich auch bei P. Amasreiter, R. M. Walczyk und T. Probst für die chemiefreien Zeiten.

Meiner Familie danke ich sehr für ihre Unterstützung und dass sie immer für mich da ist.

Vor allem möchte ich meiner Sarah für die vielen kleinen und großen Dinge danken, die sie für mich getan hat, und dafür, dass es sie gibt.

A EINLEITUNG	1
1. GRUNDLEGENDES ZUR AMMONIUM-ION-ERKENNUNG	1
2. KRONENETHER.....	3
3. KRONENETHERÄHNLICHE REZEPTORMOLEKÜLE.....	6
4. CALIXARENE	10
5. PHOSPHONAT-BASIERTE REZEPTOREN	14
6. WEITERE KONZEPTE	16
7. ZUSAMMENFASSUNG UND AUSBLICK.....	23
B HAUPTTEIL	25
1. EINFÜHRUNG.....	25
2. FUNKTIONALISIERTE KRONENETHERBAUSTEINE.....	27
2.1. <i>Synthesen</i>	27
2.1.1. Eduktsynthesen	27
2.1.2. Monofunktionalisierte Kronenether	30
2.1.3. Triazin-KEAS	32
2.1.4. Dibenzo-KEAS	39
2.1.5. Monobenzo-KEAS	48
2.2. <i>Bindungsstudien der Kronenetheramino­säure-Bausteine</i>	53
2.2.1. Vergleich der photophysikalischen Eigenschaften der Bausteine	54
2.2.2. Monofunktionalisierte Kronenether	58
2.2.3. Triazin-Kronenetheramino­säuren	59
2.2.4. Dibenzo-KEAS	61
2.2.5. Monobenzo-KEAS	65
2.2.6. Schlussfolgerung	67
3. SYNTHETISCHE AMINOSÄURE- UND PEPTIDREZEPTOREN.....	69
3.1. <i>Aminosäurerezeptor 100</i>	69
3.1.1. Synthese	70
3.1.2. Bindungsstudien.....	71
3.2. <i>Peptidrezeptor mit Ammonium- und Histidin-Bindungsstelle</i>	73
3.2.1. Synthese	73

3.3. Aminosäure- und Peptidrezeptor für N-terminales Lysin	76
3.3.1. Synthese.....	76
3.3.2. Bindungsstudien	78
3.4. Schlussfolgerung und Ausblick.....	96
C ZUSAMMENFASSUNG	97
D EXPERIMENTELLER TEIL	99
1. ALLGEMEINES	99
1.1. Spektroskopie.....	99
1.2. Analytik.....	100
1.3. Synthese	101
1.4. Messmethoden	101
2. SYNTHESE.....	103
2.1. Synthese der Verbindungen	103
2.2. Peptidsynthesen	150
3. RÖNTGENSTRUKTUREN.....	158
E ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS	162
F LITERATURVERZEICHNIS	164
G ANHANG	168

A Einleitung

1. Grundlegendes zur Ammonium-Ion-Erkennung

Amine gehören zu den wichtigsten funktionellen Gruppen in biologischen Systemen. Sie finden sich in physiologisch-aktiven Aminen wie Histamin (1), Dopamin (2) oder auch im tertiären Ammonium-Kation Acetylcholin (3). Aminosäuren enthalten Aminogruppen und damit auch alle Peptide und Proteine. Die Aminfunktionalität liegt aufgrund ihrer Basizität unter physiologischen Bedingungen in den allermeisten Fällen als Ammonium-Ion vor.

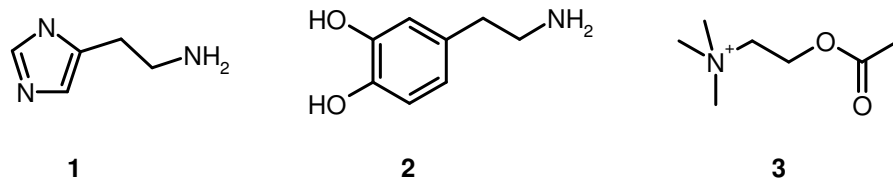


Abbildung 1: Histamin (1), Dopamin (2) und Acetylcholin (3)

Die Interaktion von kleinen Signalmolekülen und Proteinen spielt in den Regelmechanismen der Natur eine entscheidende Rolle. Die selektive Erkennung der Signalüberträger durch die Rezeptoren ist hierbei entscheidend für eine erfolgreiche Reizweiterleitung bzw. Auslösung einer Aktion auf zellulärer Ebene. So bewirkt z.B. die Bindung von Histamin an den H₁ Rezeptor im Menschen unter anderem eine Senkung des Blutdrucks und eine Erweiterung und Erhöhung der Durchlässigkeit der Blutgefäße. Die Natur hat für diese selektiven Erkennungsprozesse ein effektives Portfolio an Bindungsmotiven für verschiedene funktionelle Gruppen entwickelt. Für die unter physiologischen Bedingungen vorliegenden Ammonium-Ionen findet man drei, meist kooperative Wechselwirkungen:

a) Wasserstoffbrücken

Wasserstoffbrücken bilden sich über die stark polarisierte N⁺-H Bindung zu einem freien Elektronenpaar eines elektronegativen Atoms (O, N, F) aus. Kristallstrukturen zeigen, dass die drei beteiligten Atome meist in nahezu linearer Anordnung zueinander stehen, jedoch werden auch gegabelte Wasserstoffbrückenbindungen gefunden.¹ Diese Art von Bindung ist im wässrigen Medium sehr schwach. In der Gasphase liegen die Bindungsenergien zwischen 22

KJ/mol für die neutrale Wasserstoffbrückenbindung zwischen zwei Wassermolekülen und 163 KJ/mol für den anionischen $[\text{F}-\text{H}-\text{F}]^-$ Komplex.²

Quartäre Ammoniumionen können auf diesem Weg nicht erkannt werden, da sie keine Wasserstoffatome tragen.

b) Kation- π Bindung

Erste experimentelle Beweise für die Interaktion von Kationen mit aromatischen Systemen erbrachten *Kearle* und Mitarbeiter, die zeigen konnten, daß die Bindung von K^+ an ein Molekül Benzol oder Wasser in der Gasphase nahezu isoenergetisch sind.^{1,3} Auch die Ammonium- π Bindung wurde intensiv experimentell und mit ab initio Berechnungen untersucht, wobei sich zeigte, daß die Interaktion hauptsächlich elektrostatisch ist. Die Bindungsenergien liegen zwischen 42 und 92 KJ/mol. Die Kation- π Bindung ist ein wichtiges Erkennungsmotiv für quartäre Ammonium-Ionen.

c) Ionenpaare und Salzbrückenbindung

Coulombsche Anziehung führt zur Bindung zwischen Kationen und Anionen. Salzbrücken stellen hierbei Sonderfälle dar, bei denen zusätzlich zu den attraktiven Kräften der entgegengesetzten Ladungen noch Wasserstoffbrückenbindungen ausgebildet werden können.⁴ Dies ist z.B. bei der Salzbrücke zwischen Ammonium- und Carboxylat-Ion der Fall. Die Stärke der Bindung zwischen Kationen und Anionen hängt neben Abstand und Polarität des Lösungsmittels von der Gesamtkonzentration der Ladungen ab. Mit steigender Ionenstärke der Lösung wird das Angebot und damit auch die Konkurrenz der Bindungspartner größer. Für Coulombwechselwirkungen hat man bei Extrapolation auf eine Ionenstärke von 0 M einen überraschend konstanten Wert von ca. 8 KJ/mol für die Bindungsenergie gefunden.⁵ Dies ist erstaunlicherweise weitgehend unabhängig von der Geometrie oder der Polarisierbarkeit der Ionen oder von dem Vorliegen einer Salzbrücke.

Zum besseren Verständnis und zur Untersuchung dieser verschiedenen Bindungsbeiträge dienen Modellsysteme. Künstliche Ammoniumrezeptoren sind aber auch als Hilfsmittel in der Analytik von Nutzen, da viele synthetische Arzneimittel, Drogen und körpereigene

¹ Das in flüssiger Phase entscheidende kooperative Verhalten von Wassermolekülen wird hier in der Gasphase außer Acht gelassen. Daher erklärt sich auch, wieso flüssiges Wasser Salze um Größenordnungen besser löst als Benzol.

Botenstoffe Aminogruppen enthalten. Im folgenden werden die verschiedenen Strukturtypen einfacher Ammonium-Ionen Rezeptoren anhand exemplarischer Beispiele vorgestellt. Dabei kann keine umfassende und vollständige Vorstellung aller bislang berichteten Ammonium Ionophore angestrebt werden. Die ausgewählten typischen Beispiele sollen Möglichkeiten und Grenzen des jeweiligen Bindungsmotivs aufzeigen.

2. Kronenether

Bereits der Entdecker dieser Substanzklasse, der spätere Nobelpreisträger *Charles J. Pedersen*, hat in seiner ersten Publikation zu diesem Thema auf die Verwendbarkeit von Kronenethern zur Erkennung von Ammonium-Ionen hingewiesen.⁶

Entscheidend für eine hohe Bindungskonstante sind zwei Faktoren, wie *Cram* und Mitarbeiter nach intensiven Studien an *tert*-Butylammonium-Thiosulfat und verschiedenen Kronenethern berichteten.⁷ So muß zum einen das Prinzip der komplementären Zustände erfüllt sein. Dieses besagt, daß für eine Komplexierung der Rezeptor Bindungsstellen aufweisen muß, die den Bindungsstellen des Gastes räumlich nahe liegen und diese anziehen ohne dabei strukturelle Spannungen oder Abstoßungskräfte zu generieren. Zweitens wird der gebildete Komplex um so stabiler sein, je besser Gast und Rezeptor geometrisch passend füreinander vororganisiert sind. Die Bindung des Gastes erfolgt bei Kronenethern durch Wasserstoffbrückenbindungen zwischen den Sauerstoffen (oder Stickstoff, Schwefel oder andere freie Elektronenpaare enthaltenden Atomen bei Heterokronenethern) und den $\text{N}^+\text{-H}$ Bindungen. Die Vororganisation wird durch den ringförmigen Aufbau erreicht. Anhand der Ringgröße kann man Selektivität für verschiedene Kationen erreichen. Primäre Ammonium-Ionen werden von 18-Krone-6 (4) Derivaten am besten komplexiert.¹

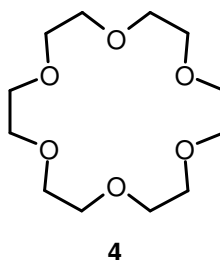


Abbildung 2: Kronenether 18-Krone-6

Aufgrund der Vielzahl der publizierten Arbeiten sei hier nur auf die sehr umfassende Darstellung von Kronenethersynthese⁸ und die Anwendung als Ammoniumbinder⁹ in Comprehensive Supramolecular Chemistry, Vol. 1, hingewiesen. Im Folgenden sind Bindungsstärken und Lösungsmiteleinflüsse kurz zusammengestellt, um einen Vergleich mit den weiter unten aufgeführten Beispielen zu ermöglichen.

Tabelle 1 zeigt die Lösungsmiteleinflüsse auf die Stabilitätskonstanten von 1:1 Komplexen zwischen Benzylammonium-Chlorid und 18-Krone-6 (**4**) bei 298K. Die Daten wurden mit Hilfe der Titrationskalorimetrie ermittelt.¹

Lösungsmittel	lg K
Wasser	1.44
Methanol	4.22; 4.43*
Isopropanol	4.14
n-Oktanol	3.25
Dimethylformamid	2.50
Dimethylsulfoxid	1.34

* Ermittelt mittels ionenselektiver Elektrode

(Messungen in Acetonitril und Aceton ergaben keine ausreichenden Wärmetönungen.)

Tabelle 1: Bindungskonstanten von 18-Krone-6 (**4**) und Benzylammonium-Chlorid in verschiedenen Lösungsmitteln

Aus den dargestellten Daten wird deutlich, daß Kronenether in hochkompetitiven Medien wie Dimethylsulfoxid (sehr guter H-Brücken Akzeptor) und Wasser (schlechterer H-Brücken Akzeptor als Methanol, aber sehr guter H-Brücken Donor) sehr viel schwächere Komplexbildner für Ammonium-Kationen sind als in Methanol.

Tabelle 2 zeigt den Einfluß der Kronenetherkonstitution auf die Komplexbildungskonstante in Methanol (ermittelt mittels K^+ ionenselektiver Elektrode).

Kronenether	Gast	lg K
12-Krone-4	BnNH ₃ Cl	0.80
15-Krone-5	BnNH ₃ Cl	2.74
18-Krone-6	BnNH ₃ Cl	4.43

Tabelle 2: Bindungskonstanten verschiedener Kronenether mit Benzylammonium-Chlorid in Methanol

18-Krone-6-artige Kronenether zeigen gegenüber Ammonium-Ionen meist die besten Bindungseigenschaften. Ausnahmen hierzu sind z.B. sekundäre Ammonium-Ionen, die größere Rezeptoren bevorzugen.¹⁰ Hier tritt dann oftmals ein „Durchfädeln“ des Ammonium-Ions ein, was zu pseudorotaxanartigen Strukturen führt (siehe Abbildung 3).

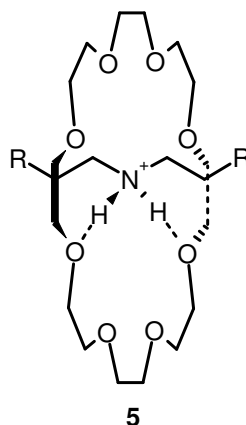


Abbildung 3: Ein Pseudorotaxan (5) aus einem 24-Krone-8 Kronenether und einem sekundären Ammoniumion

3. Kronenetherähnliche Rezeptormoleküle

In diesem Unterkapitel sollen aktuelle Beispiele für Ammoniumrezeptoren aufgeführt werden, die Kronenether als strukturelles Leitmotiv besitzen, sich jedoch aufgrund ihrer Geometrie oder auch ihren Eigenschaften deutlich von der Orginalsubstanzklasse unterscheiden.

Fuji und Mitarbeiter¹¹ haben ein chirales Lariatethersystem (**6**) entwickelt, das strukturell mit dem zuerst von *Cram*¹² publizierten Binaphthylkronenethergerüst verwandt ist.

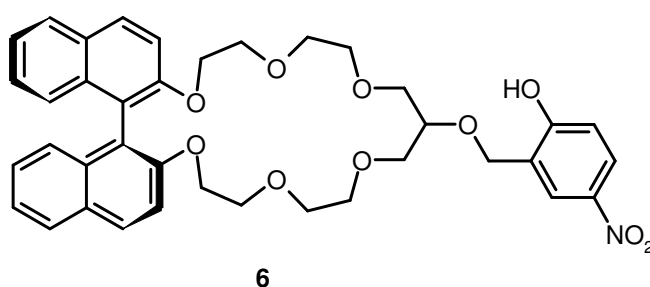


Abbildung 4: Lariatether von *Fuji* und Mitarbeitern

Die acide phenolische OH-Gruppe bewirkt eine Protonierung des zu erkennenden aminhaltigen Moleküls. So wird der für das Kronenethersystem schlechte Gast Amin in ein Ammonium-Ion umgewandelt, das viel besser gebunden werden kann. Zudem kann sich noch eine Salzbrücke zwischen Ammonium-Kation und Phenolat-Anion ausbilden. Die Autoren berichteten, daß bei UV-Titration mit Hexylamin die Komplexbildungskonstanten zwischen 14 M^{-1} in THF und $> 10^5 \text{ M}^{-1}$ in DMSO liegen. Dies ist überraschend, da die Bindungsstärke eines Kronenethers mit zunehmender Konkurrenz des Lösungsmittels als Wasserstoffbrückenakzeptor zurückgeht. Hier hat wohl die Salzbrücke einen maßgeblichen Einfluß auf die Bindungsstärke. Auch Kation- π Interaktionen sind denkbar. Das beste Ergebnis hinsichtlich Komplexbildungsunterschieden zwischen enantiomeren Aminen erreichten *Fuji et al.* bei der Erkennung von Phenylglycinol. Hierbei wurde das *R*-Enantiomer ($K_a = 30 \text{ M}^{-1}$) um den Faktor 3.2 besser als das *L*-Enantiomer ($K_a = 9 \text{ M}^{-1}$) im Lösungsmittelgemisch Methanol/Acetonitril 1/9 gebunden.

Ebenfalls *Fuji et al.* haben einen weiteren kronenetherbasierenden Aminrezeptor (**7**) entwickelt. Ausgehend vom Grundgerüst Phenolphthalein, ist dieser Sensor durch seine beiden Kronenethereinheiten sogar in der Lage, zwei Aminogruppen zu erkennen. Aufgrund

der Phenolphthaleinstruktur wird bei Bindung eines Amins dieses protoniert und das Phenolat-Ion gebildet. Hierdurch öffnet sich das Lacton und es bilden sich Carboxylat-Anion und Chinon, wodurch die Substanz farbig wird. Es wurde zunächst das Bindungsverhalten hinsichtlich terminaler Diaminoalkane untersucht.¹³ Hierbei zeigte sich, daß dieser Rezeptor am besten 1,8-Diaminooktan ($K = 1270 \text{ M}^{-1}$) und 1,9-Diaminononan ($K = 2020 \text{ M}^{-1}$) in Methanol bindet und bei Alkylkettenlängen kleiner als C_5 sich keine Bindung mehr nachweisen läßt.

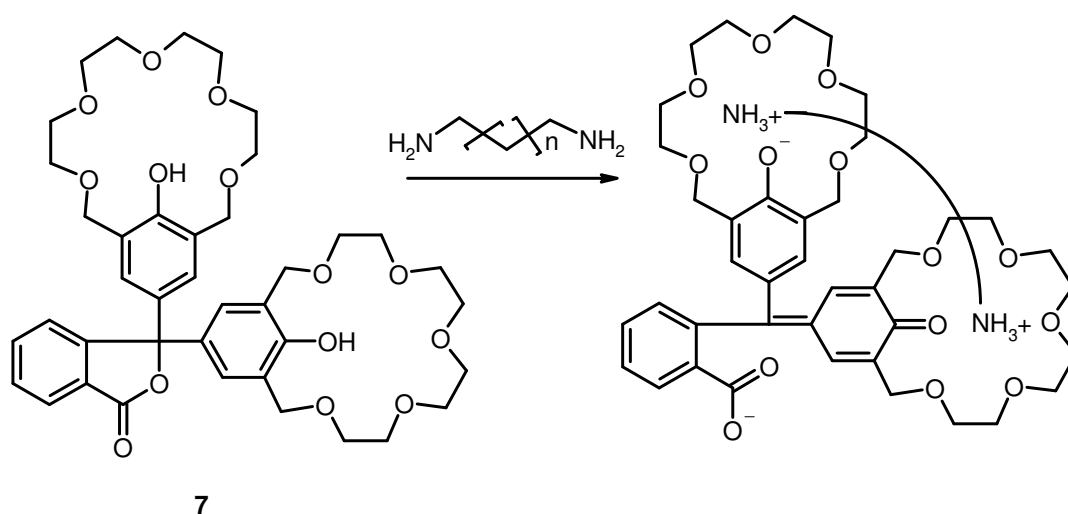


Abbildung 5: Sensorsystem von *Fuji et al.* zur Komplexierung von Diaminen

Bei der Untersuchung der Stöchiometrie dieser Reaktion stellte sich heraus, daß diese zwischen 1.2 und 1.3 lag. Offensichtlich wird ein Äquivalent des Diamins von den beiden Kronenethern komplexiert und ein weiteres dient als Gegenion zum Carboxylat-Anion. Bei Zugabe von einem großen Überschuß *N*-Ethylpiperidin als Base liegt die Stöchiometrie bei der erwarteten 1:1 Komplexzusammensetzung. Kontrollexperimente mit *N*-Ethylpiperidin und dem Sensor zeigten ebenso wenig ein Farbsignal wie Diamine mit den kronenetherfreien Phenolphthaleinderivaten. Die Autoren untersuchten auch die Bindung von ungeschützten Dipeptiden und 7.¹⁴ Wie schon bei den Diaminen gezeigt, kann auch in diesem Fall nur dann eine Bindung detektiert werden, wenn zwei Aminogruppen in passendem Abstand zueinander stehen. Daher werden ausschließlich Dipeptide mit Lysin am C-terminalen Ende erkannt. Die höchsten Bindungskonstanten in Methanol/Wasser 10/1 wurden mit Lys-Lys ($K = 1020 \text{ M}^{-1}$) und Gly-Lys ($K = 930 \text{ M}^{-1}$) erzielt.

Bereits einige Jahre zuvor hatte die Gruppe um *Voyer* ebenfalls kronenetherbasierende Rezeptoren für Diamino- bzw. Diammoniumalkane publiziert.¹⁵ Zwei aus L-DOPA synthetisierte Kronenetherbausteine (KB, **8**) wurden in eine Oligo-Alanin-Peptidkette eingebaut.

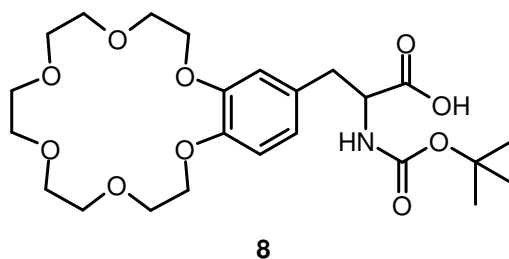


Abbildung 6: Kronenetherbaustein (KB, **8**) von *Voyer et al.*

Durch Variation der Anzahl der Ala Moleküle zwischen diesen beiden Rezeptoren wurde die optimale Spacerlänge ermittelt. Als beste Sequenz stellte sich unter den drei getesteten (1 – 3 Ala als Spacer) jene heraus, die zwei Ala-Moleküle zwischen den beiden Kronenethern besitzt: *Boc-Ala-Ala-KB-Ala-Ala-KB-Ala*-ⁿPr.

Als bestes Gastmolekül erwies sich ebenso wie bei *Fuji et al.* das 1,9-Diaminononan für alle drei Sequenzen. Getestet wurden alle linearen Diaminoalkane der Kohlenstoffkettenlängen C₂ bis C₉. Die Bindungskonstanten wurden mittels der Pikratextraktionsmethode¹⁶ aus Wasser in Chloroform ermittelt. Die höchste erreichte Komplexbildungskonstante zwischen bestem Rezeptor und bestem Gast betrug $2.05 \cdot 10^{10} \text{ M}^{-1}$. Da diese Meßmethode relativ ungenau¹⁷ und das Lösungsmittelsystem nicht mit obigem vergleichbar ist, ist es schwierig, beide Konzepte gegeneinander abzuwägen. Überraschend ist jedoch der Unterschied in den Spacerlängen der beiden Rezeptoren. Im Vergleich zum System von *Fuji* müssten die Kronenetherbausteine direkt miteinander verknüpft sein, um einen ähnlichen Abstand der Kronenether zu erhalten. Da hier jedoch die besten Ergebnisse mit 2 Alaninen als Spacer gefunden wurden, deutet dies darauf hin, daß einfache Überlegungen zur Rezeptorgeometrie wohl nicht ausreichend sind, um die gezielte Komplexierung von bestimmten Gastmolekülen zu erreichen.

Schneider und *Hossain* benutzten einen ähnlichen Kronenetherbaustein in ihrem Rezeptor (**9**) für die selektive Erkennung von Peptiden in Wasser.¹⁸ Neben der Bindung des Ammoniumendes ermöglicht eine peralkylierte Ammoniumgruppe die Komplexierung des

terminalen Carboxylates. Zusätzlich kann mit einer fluoreszierenden Dansyleinheit neben der optischen Indikatorfunktion auch die Möglichkeit zu hydrophoben Wechselwirkungen mit den Peptidseitenketten in den Rezeptor eingeführt werden.

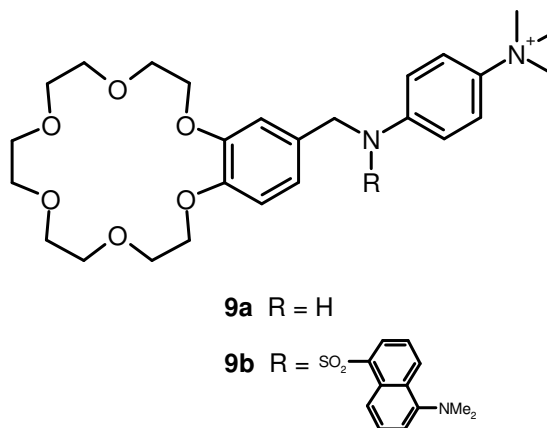


Abbildung 7: Peptidrezeptor von *Schneider et al.*

Die Autoren testeten verschiedene Di- und Tripeptide und fanden für **9a** die besten Bindungskonstanten bei der NMR-Titration mit Triglycin (200 M^{-1} in Wasser, 13000 M^{-1} in Methanol). Bei der Fluoreszenztitration von **9b** hingegen wurde der bindungsverstärkende Effekt der hydrophoben Wechselwirkung zwischen den Seitenketten deutlich. Tripeptide mit einer mittelständigen Aminosäure mit aromatischer Seitengruppe zeigten eine signifikant höhere Bindungskonstante (maximal für Gly-Trp-Gly: 2150 M^{-1} in Wasser) als Triglycin (210 M^{-1} in Wasser).

*Suzuki et al*¹⁹ entwickelten auf Basis eines Triaza-18-Krone-6 Moleküls ein Rezeptormolekül (**10**) für underivatisierte Aminosäuren. Neben dem Ammonium-erkennenden Kronenetherteil bieten zwei Guanidiniumgruppen Bindungsstellen für die Carboxylatenden von Aminosäuren. Zusätzlich dient eine Antraceneinheit als Fluoreszenzsensor, da bei Bindung eines Ammonium-Ions die freien Elektronenpaare der Stickstoffe in die Wasserstoffbrückenbindungen einbezogen werden und dann weniger die Emission durch Photoelektronentransfer löschen können.

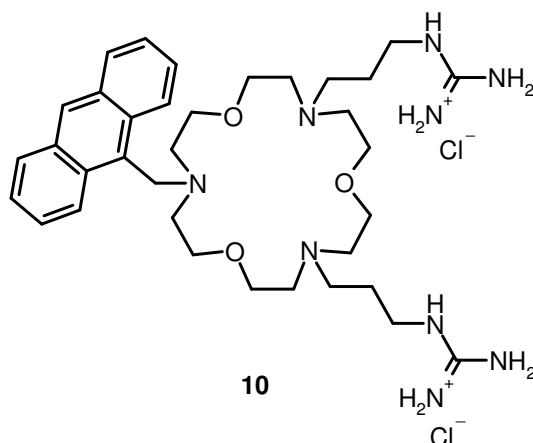


Abbildung 8: Aminosäurerezeptor von *Suzuki et al.*

Im Vergleich mit der guanidiumfreien Synthesestufe zeigt **10** neben Ammoniumbindungseigenschaften auch Selektivität für die Aminosäuren Glycin, Lysin und GABA (4-Aminobuttersäure). Die Autoren geben keine Bindungskonstanten an, beschreiben aber, daß die Emissionsintensität des Moleküls in Wasser/Methanol 1/2 bei Zusatz von GABA um den Faktor 2.2 steigt.

4. Calixarene

Homocalixarene sind strukturell eng mit Kronenethern verwandt. Das von *Tsubaki et al.* synthetisierte Homocalix[3]aren (**11**) hat durch seinen 18-gliedrigen Ring mit 6 Sauerstoffatomen Ähnlichkeit mit einem 18-Krone-6 Molekül.²⁰ Zusätzlich enthält es noch eine als Reichhardts dye E_T1 bekannte Pyridinium-phenoleinheit, die bei Bindung eines Amines zur korrespondierenden Phenolatspezies und damit zum Chromophor wird. Die Betainstruktur zeigt eine langwellige Charge-Transfer Absorption im sichtbaren Bereich. Somit werden Bindungsprozesse leicht optisch beobachtbar.

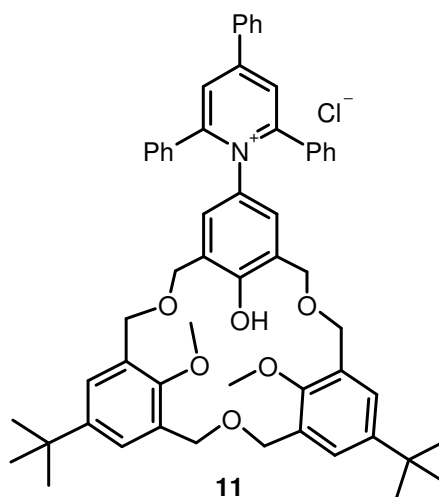


Abbildung 9: Homocalix[3]aren von *Tsubaki et al.*

Die Autoren konnten zeigen, daß bei Zugabe von Aminen und auch Erdalkalimetallacetaten einzig **11** in der Lage ist, eine Farbreaktion zu zeigen, nicht jedoch der Farbstoff E_T1. Somit handelt es sich tatsächlich um Bindungsprozesse und nicht nur um Säure-Base Reaktionen. Bei den durchgeführten Bindungsstudien wurde festgestellt, daß aufgrund sterischer Abstoßung bevorzugt primäre vor sekundären und tertiären Aminen gebunden werden und, daß *n*-Butylamin mit einer Bindungskonstante von 135 M^{-1} in DMSO am besten gebunden wird.

Von einem regulären Calix[4]aren ist die Gruppe um *Huang* ausgegangen, als sie einen Aminrezeptor mit ebenfalls optischer Anzeige entwickelt haben.²¹ Das distal dinitrierte Molekül (**12**) wurde an den 2 Sauerstoffen der nicht nitrierten Phenole durch Alkylierung (R = Me, CH₂COOEt, Oligoethylenglykol Brücken, CH₂CONHC_nH_{2n}NHCOCH₂ Brücken; X = H, tert-Butyl) derivatisiert. Aus den so erhaltenen verschiedenen Rezeptoren wurde derjenige mit den besten Bindungseigenschaften ermittelt.

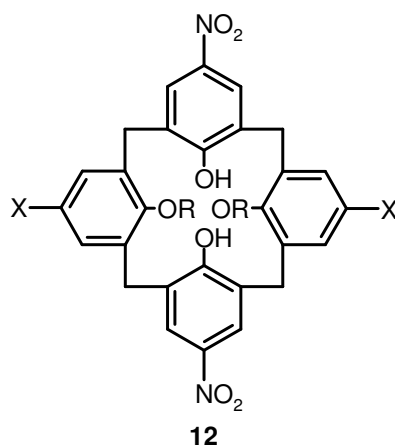
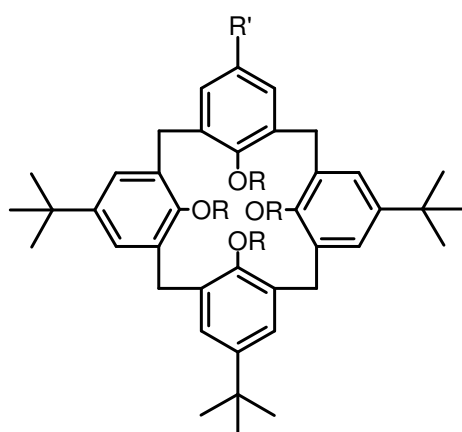


Abbildung 10: Calixarenrezeptor von *Huang et al.*

Wie bei dem vorangegangenen Beispiel ist auch hier das durch Bindung des Amins entstehende Phenolation entscheidend für die Entwicklung der Farbe. Aufgrund zweier deprotonierbarer Phenole pro Calixaren ist es nicht verwunderlich, daß die Autoren eine 1:2 (Rezeptor:Amin) Stöchiometrie ermittelten. In Chloroform fanden sie bei dem Rezeptor mit $X = H$ und $R = CH_2COOEt$ die besten Bindungseigenschaften für *n*-Butylamin ($K = 326 \text{ M}^{-2}$).

Keine optische Anzeigemöglichkeit, dafür aber sehr stark verbesserte Bindungseigenschaften finden sich bei dem Calix[4]aren (**13**) von Parisi et al.²² Durch den Austausch der *tert*-Butylgruppe (**13a**) durch eine Harnstofffunktionalität (**13b** bzw. **13c**) am upper rim konnte eine drastische Verbesserung der Bindungskonstanten erreicht werden.



- 13a** $R' = \textit{tert}$ -Butyl
13b $R' = (R)\text{-PhMeCHNHC(O)NH}$
13c $R' = (S)\text{-PhMeCHNHC(O)NH}$

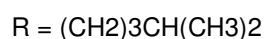


Abbildung 11: Calixaren von *Parisi et al.*

Durch die freie Drehbarkeit um die Aromat-N(Harnstoff)-Bindung ist die Harnstoffeinheit in der Lage, sowohl als Wasserstoffbrückenakzeptor Ammonium-Ionen als auch als Wasserstoffbrückendonor Carboxylat-Ionen zu binden. Ein Vergleich der Bindungskonstanten zeigt, daß jedoch Carboxylat-Ionen deutlich besser gebunden werden, da der Unterschied zwischen der Bindung von 1,5-Diaminopentan Dihydrochlorid (DAP * 2 HCl, **14**) und 5-Aminopentansäure (APS, **15**) deutlich außerhalb der angegebenen Fehlergrenze von 15 % liegt.

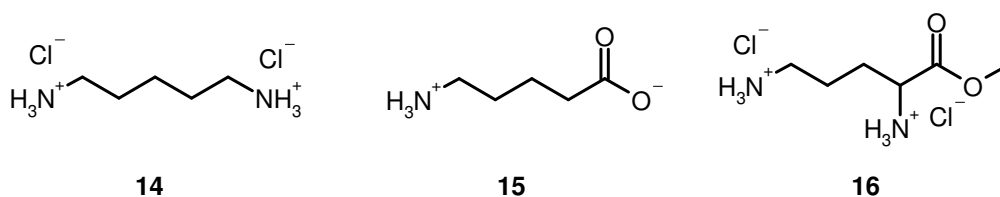


Abbildung 12: DAP * 2 HCl (**14**), APS (**15**) und Lys-OMe * 2 HCl (**16**)

Rezeptor	14	15	16
13a	300 M^{-1}	1070 M^{-1}	43 M^{-1}
13b	12820 M^{-1}	16140 M^{-1}	2240 M^{-1}
13c	11860 M^{-1}	16850 M^{-1}	2190 M^{-1}

Gemessen durch NMR Titration in $\text{C}_2\text{D}_2\text{Cl}_4/\text{CD}_3\text{OD}$ 2/1

Tabelle 3: Bindungskonstanten von verschiedenen Gästen mit den Rezeptoren **13a**, **13b**, **13c**

Obwohl es sich bei den Rezeptoren **13b** und **13c** um Enantiomere handelt, ist die Bindung des Rezeptors nicht stereoselektiv. Dies zeigt sich aus dem Vergleich der Bindungskonstanten der nicht chiralen Gästen DAP * 2 HCl und APS, die jeweils in der gleichen Größenordnung liegen wie die Bindungskonstanten des chiralen Lysinmethylesters. Unterschiede in der Affinität liegen zudem kaum signifikant über dem Rahmen der Fehlerschwankung. Die deutlich niedrigere Bindung des Lysinderivates führen die Autoren auf den sterischen Anspruch der Estergruppe zurück.

5. Phosphonat-basierte Rezeptoren

Die Entwicklung von phosphonat-basierten Amino- bzw. Ammoniumrezeptoren wird in den letzten Jahren hauptsächlich von der Arbeitsgruppe um *Schrader*, zum Teil in Zusammenarbeit mit der Gruppe von *Finocchiaro* vorangetrieben. Diese beiden berichteten 2000 über einen chiralen Sensor für Arginin und Lysin.²³ Das von ihnen dargestellte chirale Bisphosphonat (**17**) bindet Ammonium und Guanidinium durch Wasserstoff- und Salzbrücken.

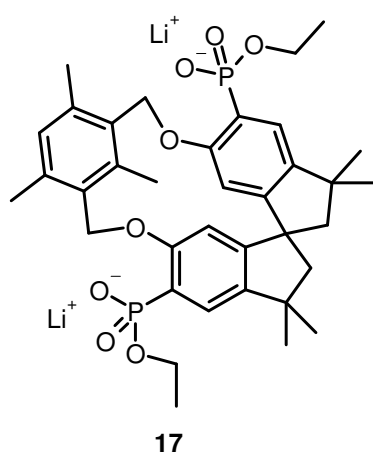


Abbildung 13: Bisphosphonat (**17**) von *Schrader* und *Finocchiaro*

Bei der Untersuchung der Bindungseigenschaften durch NMR-Titration in DMSO stellten die Autoren fest, daß bei kurzen Diammoniumverbindungen wie L-Histidin und L-Ornithin (jeweils als Dihydrochlorid) eine 1:2 (Rezeptor:Gast) Stöchiometrie vorliegt und es zu keiner chiralen Diskriminierung kommt. Anders hingegen bei Lysin ($K = 2.1 \cdot 10^4 \text{ M}^{-1}$) und Arginin ($K = 9.4 \cdot 10^3 \text{ M}^{-1}$), deren Komplexe ein 1:1 Verhältnis aufweisen und bei denen auch eine Unterscheidung der Enantiomere stattfindet. Somit liegt nahe, daß der Abstand der beiden Ammoniumgruppen in einem Gastmolekül ausreichend groß sein muß, um eine Bindung an beide Phosphonate des Rezeptors zu ermöglichen. Die gefundenen Enantiomerenüberschüsse wurden zu 17 % bei Arginin und 33 % bei Lysin ermittelt.

Die Weiterentwicklung dieses Rezeptors führte dann zu dem Tetraphosphonat (**18**).²⁴ Durch Verdopplung der bindungsvermittelnden Phosphonatgruppen zeigt sich eine deutliche Bindungsverstärkung, so dass der Rezeptor sogar in Wasser verwendet werden kann. Die ermittelten Stöchiometrien liegen wiederum bei den meisten untersuchten

Diammoniumamino­säuren bei 1:2. Einzige Ausnahme ist hier nur Lysin, das einen 1:1 Komplex bildet.

Aminosäure (2 HCl)	K_a [M^{-1}] (Methanol)	K_a [M^{-1}] (Wasser)	Rezeptor:Gast Stöchiometrie
Histidin	29000	650	1:2
Ornithin	9500	221	1:2
Arginin	8800	165	1:2
Lysin	21000	1200	1:1

Tabelle 4: Bindungskonstanten für die Komplexe von **18** mit verschiedenen Aminosäuren

Die außergewöhnlich gute Bindung von Histidin erklären die Autoren mit einem Chelatkomplex, der neben der Aminosäuren-Ammoniumfunktionalität auch beide Imidazol-Stickstoffe einschließt.

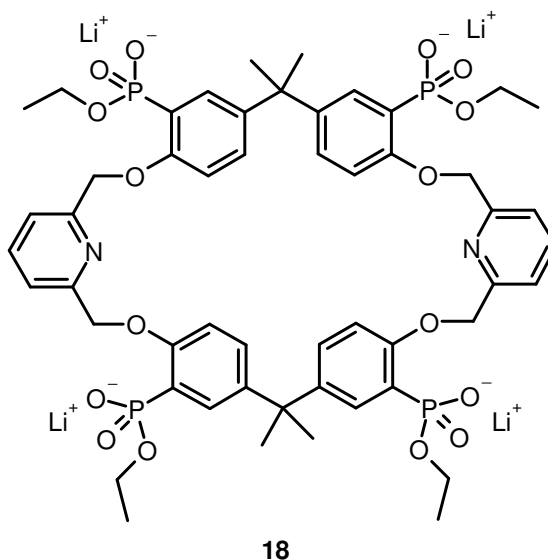


Abbildung 14: Tetraphosphonat **18** von Schrader und Finocchiaro

Schrader *et al.* stellten ein ähnliches System (**19**) zur Erkennung von Adrenalin und ähnlichen biologischen Aminen vor.²⁵ In Methanol bindet der Rezeptor verschiedene Amine wie Ethanolamin und Propranolol relativ unspezifisch, die Werte der Bindungsaffinitäten variieren lediglich zwischen 700 und 1600 M^{-1} . Anders hingegen, wenn sich **19** in eine Stearinsäure-Monoschicht an der Luft-Wasser Grenzfläche einlagert. Hier wird selektiv

Noradrenalin gebunden (die Autoren schätzten eine Bindungskonstante von mindestens 10^5 M^{-1}). Der Nachweis der Bindung wird durch Veränderung der Druck-Flächen-Diagramme aus Messungen mit der Langmuirschen Filmwaage erbracht. Das im Vergleich zur Lösung drastisch veränderte Verhalten wird mit der in der Grenzschicht forcierten Einlagerung des Gastes in den Hohlraum des Rezeptors und der Ausbildung weiterer Wasserstoffbrückenbindungen zwischen den Amid NH von **19** und dem phenolischen Sauerstoff des Noradrenalins erklärt. Bei anderen Catecholaminen ist kein Effekt zu beobachten.

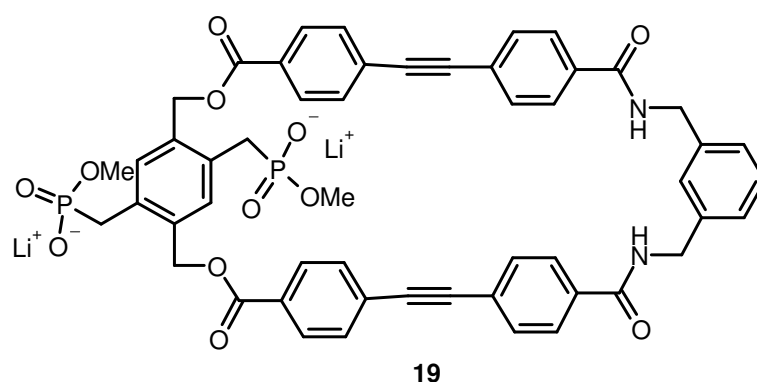


Abbildung 15: Rezeptor (**19**) zur Bindung von Noradrenalin an Grenzschichten von *Schrader et al.*

6. Weitere Konzepte

Rebek et al. haben schon früh über den günstigen Einfluß sich allosterisch unterstützender Effekte bei der molekularen Erkennung berichtet.²⁶ So kann ihr Rezeptor (**20**) mit einer Carboxylatgruppe Ammonium erkennen. Das Pyridinium-Kation bindet an Carboxylat und schließlich bietet das ausgedehnte π -System noch die Möglichkeit zum π -stacking.

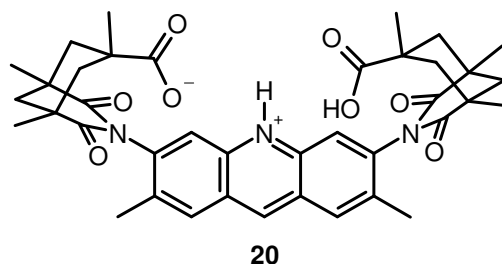


Abbildung 16: Rezeptor (**20**) von *Rebek et al.*

Durch Extraktionsexperimente (Wasser/Chloroform) mit ungeschützten Aminosäuren ermittelten die Autoren eine Bindungspräferenz für Phenylalanin, Tryptophan und Tyrosin. Leucin, Isoleucin und Valin wurden hingegen nicht in die organische Phase transportiert. Somit scheint die π -stacking Interaktion hier einen entscheidenden Beitrag zur Komplexstabilisierung zu leisten. Auch Phenylglycin ist aufgrund der Geometrie nicht in der Lage, neben den Bindungen der geladenen Molekülteile zusätzlich π -stacking auszubilden. Die Wechselwirkungen mit aromatischen π -Elektronenwolken spielt bei dem von *Kim et al.* synthetisierten NH_4^+ Rezeptor (**21**) ebenfalls eine große Rolle.²⁷ Das käfigförmige Molekül bindet Ammonium-Ionen zum einen durch Wasserstoffbrücken aber auch durch Kation- π -Interaktionen.

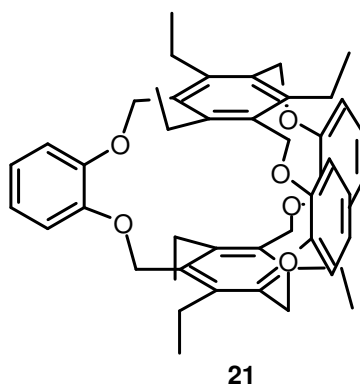
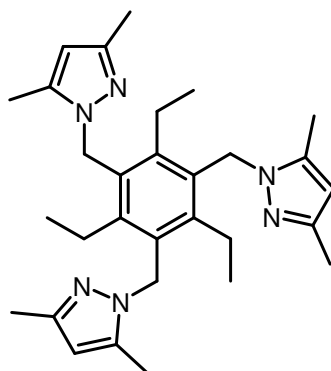


Abbildung 17: Käfigförmiger NH_4^+ Rezeptor (**21**) von *Kim et al.*

Der eingeschlossene Hohlraum wurde so bemessen, daß er optimal für Ammonium-Ionen, zu groß jedoch für Lithium- und Natrium-Ionen ist. Beim Einsatz in ionenselektiven Elektroden zeigte **21** eine geringfügig höhere Nachweisgrenze ($3.2 \cdot 10^{-6} \text{ M}$) als der natürliche Ammoniumsensor Nonactin ($1.5 \cdot 10^{-6} \text{ M}$) bei einem gesteigerten Ammonium/Kalium Selektivitätskoeffizient von $\lg K_{\text{NH}_4^+/\text{K}^+} = -0.97$ (Nonactin: $\lg K_{\text{NH}_4^+/\text{K}^+} = -0.88$). Die durch die

Extraktionsmethode¹⁶ ermittelte Bindungskonstante von Ammonium-Ionen beträgt $3.3 \cdot 10^7 \text{ M}^{-1}$.

Einen ähnlichen C₃-symmetrischen Rezeptor (**22**) – jedoch ohne Spiegelebene – entwickelten *Chin et al.* ebenfalls für die Anwendung in der ionenselektiven Elektrode.²⁸



22

Abbildung 18: Ammoniumrezeptor (**22**) von *Chin et al.*

Im Vergleich zum vorhergehenden Beispiel **21** zeigt dieser Rezeptor **22** eine erhöhte Ammoniumselektivität ($\lg K_{\text{NH}_4^+/\text{K}^+} = -2.6$), jedoch ist die Bindungskonstante gegenüber Ammonium-Ionen, die ebenfalls mit Extraktionsmethode¹⁶ ermittelt wurde, geringer ($K_a = 1.4 \cdot 10^6 \text{ M}^{-1}$).

Die Weiterentwicklung dieses Strukturmotivs, die von *Ahn et al.* durchgeführt wurde, führte zu einem Austausch der gering basischen Pyrazole ($pK_a \approx 2.5$) gegen 2-Oxazoline mit etwas höherer Basizität ($pK_a \approx 5$).²⁹

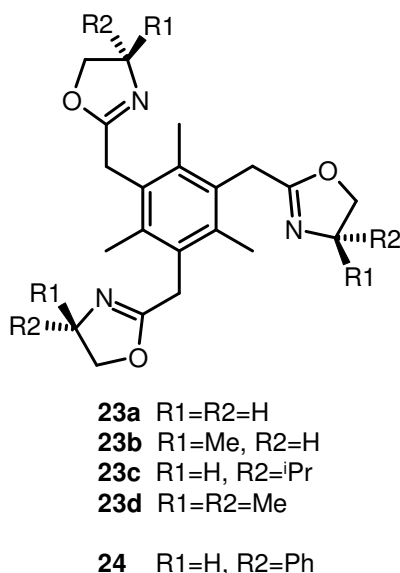


Abbildung 19: 2-Oxazolin-basierende Ammoniumrezeptoren **23a-d** und **24** von *Ahn et al.*

Die Bindungskonstanten der Moleküle **23a** bis **23d** gegenüber Ammonium- und Kalium-Ionen wurden mit der Pikrat-Extraktionsmethode¹⁶ untersucht und mit dem natürlichen Ammoniumbinder Nonactin verglichen.

	23a	23b	23c	23d	Nonactin
$K_a(\text{NH}_4^+) [\text{M}^{-1}]$	$5.1 \cdot 10^6$	$2.5 \cdot 10^7$	$9.4 \cdot 10^6$	$3.9 \cdot 10^6$	$2.0 \cdot 10^8$
$K_a(\text{K}^+) [\text{M}^{-1}]$	$3.0 \cdot 10^4$	$5.7 \cdot 10^4$	$2.4 \cdot 10^4$	$5.7 \cdot 10^4$	$6.7 \cdot 10^7$
$K_a(\text{NH}_4^+)/K_a(\text{K}^+)$	173	437	393	68	3

Tabelle 5: Bindungskonstanten und Selektivitätskonstanten der Rezeptoren **23a-d**

Durch diese strukturellen Veränderungen ausgehend von Rezeptor **22** ist es den Autoren gelungen, bei verbesserten Bindungskonstanten ($K_a(\text{22}, \text{NH}_4^+) = 1.4 \cdot 10^6$, $K_a(\text{23b}, \text{NH}_4^+) = 2.5 \cdot 10^7$) die NH_4^+/K^+ Selektivität von 398 auf 437 zu erhöhen.

Ein weiterer Vorteil der Oxazoline im Vergleich zu den Pyrazolsubstituenten ist die Möglichkeit, Chiralität in den Rezeptor zu bringen. *Ahn et al.* haben mit enantiomerenreinem **24** die Bindung verschiedener Gastmoleküle untersucht.³⁰ Hierbei stellten sie eine Erhöhung der Enantiodiskriminierung racemischer Moleküle bei Anwesenheit eines Wasserstoffbrückenakzeptors in β -oder γ -Stellung zum Ammonium-Ion fest. Die Autoren führten dies auf das Vorhandensein einer gegabelten („bifurcated“) H-Brücke zurück, die die freie Rotation des β -Substituenten einschränkt. Mittels ITC Titration (in Acetonitril) wurden die Bindungskonstanten für die R- und S-Form von **25** zu $3.0 \cdot 10^4 \text{ M}^{-1}$ bzw. $9.2 \cdot 10^3 \text{ M}^{-1}$ ermittelt. Die durch Extraktionsmethode ermittelte Enantioselektivität beträgt 63:37 zugunsten des R-Enantiomers. Die beste Selektivität wurde mit 83:17 für **26** gefunden, wobei hier jedoch nur eine $< 5 \%$ ige Extraktion aufgrund der erhöhten Wasserlöslichkeit von **26** möglich war.

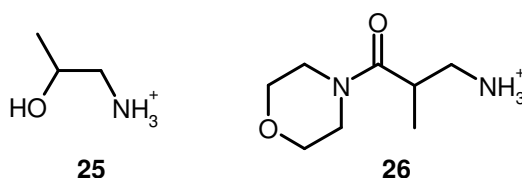


Abbildung 20: Racemische Gastmoleküle für Rezeptor **24**

Fuji et al. haben ein interessantes System zur optischen Unterscheidung enantiomerer Aminosäuren publiziert.³¹ Die Autoren nutzten das farblose aber als thermo- und photochrom bekannte Spiropyranerüst (**27**), das durch Behandlung mit UV-Licht in die farbige Merocyaninform überführt wird. Die dabei entstehende zwitterionische Spezies (**27a**) ist durch ionische und Wasserstoffbrückeninteraktionen in der Lage, Aminosäuren zu binden. Diese Komplexbildung wiederum stabilisiert den farbigen Merocyaninzustand und das unter Dunkelbedingungen erfolgende Ausbleichen der Verbindung wird verlangsamt.

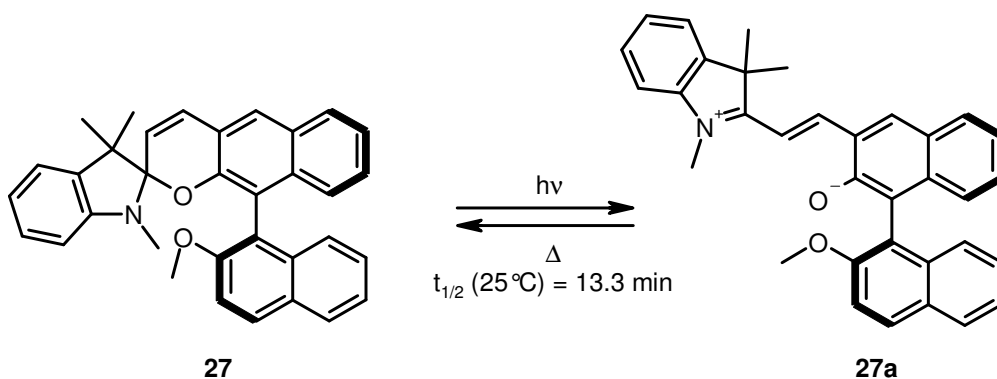


Abbildung 21: Spiropyran- (**27**) und Merocyaninform (**27a**) des Aminosäurerezeptors von *Fuji et al.*

Durch das chirale Binaphthylsystem entstehen mit Aminosäuren diastereomere Komplexe, welche sich durch ihre Entfärbungsraten unterscheiden. Die beste Stabilisierung von **27a** wurde mit Ammoniumacetat erzielt ($t_{1/2} = 122 \text{ min}$).

Gast	$t_{1/2} \text{ (D, L) [min]}$
Ohne	13.3
Alanin	24.1, 23.4
Valin	32.5, 28.1
Tryptophan	20.2, 17.0
Phenylalanin	30.4, 26.8
Ammoniumacetat	122

Tabelle 6: Abhängigkeit der Entfärbungsgeschwindigkeit von **27a** von verschiedenen D- und L-Aminosäuren und Ammoniumacetat

Einen kovalenten Ansatz zur Erkennung von Ammonium-Ionen verfolgten *Glass et al.* Ihr Coumarinderivat (**28**) bildet mit Ammonium-Ionen (u.a. von Aminosäuren) Iminiumsalze (**28a**). Die Iminiumbildung kann sowohl durch UV Spektroskopie anhand einer Rotverschiebung der langwelligsten Absorptionsbande von ca. 440 nm auf ca. 480 nm, als auch durch eine deutliche (bis zu 45-fache) Steigerung der Fluoreszenzintensität² verfolgt werden. Als Hauptgrund für die spektroskopischen Veränderungen erachteten die Autoren die Ausbildung einer Wasserstoffbrückenbindung zwischen dem Iminiumwasserstoff und dem Lactoncarbonylsauerstoff. Da die Messungen unter physiologischen Bedingungen durchgeführt wurden, sind die erzielten Gleichgewichtskonstanten (maximal für Lysin: $K_{eq} = 6.5 \text{ M}^{-1}$) für die Bindung von Aminosäuren durchaus beachtenswert, insbesondere da vergleichbare einfache Wasserstoffbrücken-basierte Rezeptoren unter diesen Bedingungen meist keine Affinität zeigen.

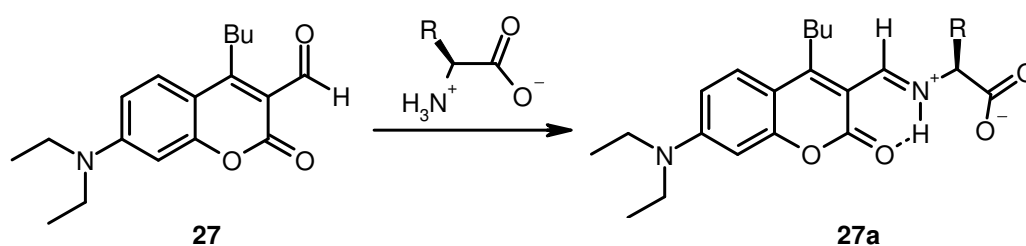


Abbildung 22: Coumarinaldehyd (**27**) und Iminiumspezies mit gebundener Aminosäure (**27a**) von *Glass et al.*

² Die Anregung erfolgt bei 495 nm, also in einem Bereich, in dem praktisch nur das Iminiumion absorbiert. Die Fluoreszenzsteigerung ist somit hauptsächlich auf die verstärkte Anregung und nicht auf die Verminderung von Fluoreszenzlöschung zurückzuführen. Die Autoren machten keine Aussagen über die Änderung der Fluoreszenz bei Anregung am isobestischen Punkt.

7. Zusammenfassung und Ausblick

Es gibt verschiedene Wege um Amine bzw. Ammonium-Ionen zu erkennen. Unterschiedliche Bindungskonzepte können gleichzeitig genutzt werden z.B. die Kombination von Calixarenen mit Kronenethern. Die damit im Idealfall einhergehende Steigerung der Bindungskonstanten ist aber nur ein erster Schritt auf dem Weg zur gezielten Erkennung von komplexen Biomolekülen. Nur durch kooperativ arbeitende Rezeptoren ist die nötige Selektivität zu erzielen. Für einfache Aminosäuren funktioniert dies schon relativ gut. Beispiele die zeigen, wie Moleküle mit mehreren Aminen/ Ammonium-Ionen selektiv mit synthetischen Rezeptoren erkannt werden können sind bislang jedoch selten. Die Rezeptoren von *Fuji* und *Schrader* zeigen interessante Affinitäten und Selektivitäten, doch die Rezeptorstrukturen können nicht allgemein auf andere Gastmoleküle angepasst werden. *Voyer*¹⁵ hat mit seinem modularen Konzept einer Kronenetheramino­säure einen Weg aufgezeigt, um flexibel Rezeptorstrukturen auf verschiedene Gastmoleküle zuschneiden zu können. Die Arbeiten konzentrierten sich auf die Entwicklung von Ionenkanälen mit diesem Baustein.^{32,33} Ein modulares Konzept zum Aufbau von Rezeptoren für Ammonium-Ionen aus künstlichen Aminosäuren ist aufgrund seiner Flexibilität und der Verknüpfung durch etablierte Peptidsynthesemethoden sehr vielversprechend und soll im Rahmen dieser Arbeit weiterverfolgt werden.

B Hauptteil

1. Einführung

Die Bindung und Erkennung von Peptiden z.B. in Signaltransduktionprozessen spielt in lebenden Organismen eine sehr wichtige Rolle. Die Natur bedient sich hierbei meist der Zusammenwirkung mehrerer Bindungsstellen, die Bindungsstärke und –selektivität durch ihre räumliche Anordnung bestimmen. Um dieses Konzept der Natur kopieren zu können, muss der Mensch in der Lage sein, Rezeptoren in einer bestimmten festen Anordnung zueinander zu fixieren. Dies ist am besten durch die kovalente Verbindung von Rezeptoren möglich. Hierfür ist eine leichte Verknüpfbarkeit der Rezeptor-Bausteine nötig. Das bedeutet, dass bei geringem Optimierungsaufwand hohe Ausbeuten pro Kupplungsschritt zu erwarten sind. Denkbare Systeme sind hierbei z.B. die von Sharpless³⁴ zusammengestellte „Click Chemie“ oder auch die Verwendung von Isocyanaten und Aminen zur Bildung von Harnstoffderivaten. Am weitesten entwickelt ist die Peptidsynthese. Die Verwendung bereits etablierter Schutzgruppen und Syntheseprotokolle erlaubt eine breite Anwendung. Neben der üblichen Reaktionsführung in flüssiger Phase ist auch eine festphasenbasierende Strategie möglich, was den Reinigungs-Aufwand meist erheblich senkt.

Kronenether sind die am häufigsten angewandte Rezeptorstruktur zur Erkennung von Ammonium-Ionen. Daher ist es sinnvoll, diese zur Erkennung von Peptiden zu benutzen. Will man Kronenether mittels Peptidsynthese verknüpfen, so ist die Entwicklung von Kronenetheraminoacids (KEAS) nötig.

Voyer *et al.* haben bereits einen derartigen Baustein entwickelt.¹⁵ Da sich die Erkennungseinheit in der Seitenkette befindet, ist dieses System relativ flexibel. Will man jedoch selektive Erkennung bestimmter Peptidstrukturen erreichen, werden starre Strukturen bevorzugt, da in diesem Fall die Anpassungsmöglichkeiten des Rezeptors eingeschränkt sind. Höhere Rigidität lässt sich durch Einbau des Kronenethers in die Peptidachse, sprich der Verbindungslinie zwischen Amino- und Carbonsäureende der KEAS, erreichen.

Weiterhin ist es essentiell, dass der Baustein bezüglich der Peptidachse C_2 symmetrisch ist, um bei Komplexierung von chiralen Gästen keine Diastereomere zu erhalten. Dies gewährleistet, dass es keinen Unterschied macht, ob der Gast von „oben“ oder von „unten“ an den Rezeptor bindet.

Die höchsten Ammonium-Bindungskonstanten mit unsubstituierten Kronenethern werden mit dem einfachen 18-Krone-6 Molekül (**4**) erzielt. Bei Substitution am Kohlenstoffgerüst von **4** oder beim Übergang zu Benzo- oder Dibenzokronenethern ist generell eine Verringerung der Bindungsstärke zu verzeichnen.¹ Dennoch ist es für die Entwicklung der KEAS sinnvoll, möglichst nahe an der optimalen Ringgröße 18 zu bleiben. Um die erwähnte C₂-Symmetrie sicherzustellen, wird die 4,5-Dioxy-Phthalimid-Untereinheit (**29**) als Ausgangsmaterial eingesetzt.

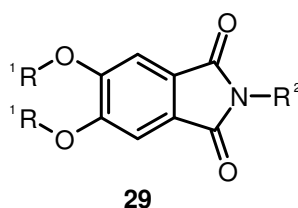


Abbildung 23: Dioxy-Phthalimid-Untereinheit **29**

Ein zusätzlicher Vorteil dieses Synthesebausteines ist, dass 4,5-Dimethoxy-Phthalimide fluoreszieren.⁶² Dadurch wird ein Fluoreszenzindikator für Bindungsprozesse in die KEAS gebracht. *Otsuki et al.* haben 2001 erstmals eine Anwendung der Phthalimid-Fluoreszenz als Bindungsindikator in Kronenethern publiziert.³⁵

Wird bei der Synthese des Phthalimids (**30**) aus dem Phthalsäure-Vorläufer (**31**) ein Aminosäureester (**32**) eingesetzt, so erhält man das Ester-geschützte Carboxyende der KEAS.

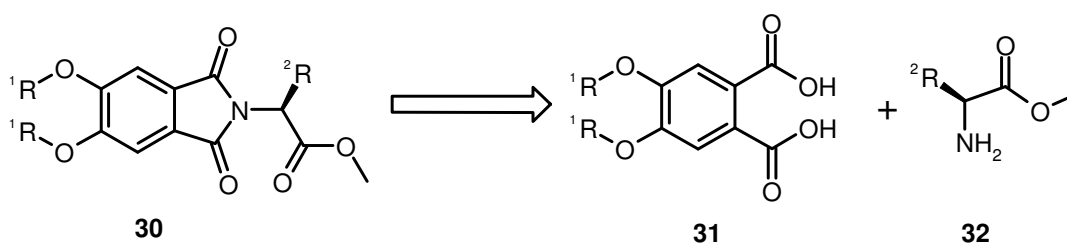


Abbildung 24: Darstellung des Phthalimids aus Phthalsäure und Aminosäureester

Bei Bedarf kann auf diesem Weg auch Chiralität in das Molekül gebracht werden, wenn optisch aktive Aminosäuren verwendet werden.

In den nachfolgenden Kapiteln wird nun zunächst auf die Entwicklung von funktionalisierten Kronenetherbausteinen eingegangen. Ausgehend von den daraus gewonnenen Erkenntnissen wird anschließend der Aufbau von synthetischen Aminosäure- und Peptidrezeptoren dargestellt.

2. Funktionalisierte Kronenetherbausteine

2.1. Synthesen

2.1.1. Eduktsynthesen

4,5-Dihydroxy-phthalsäure-dimethylester

Die Synthese dieses Edukts ist literaturbekannt.³⁶⁻³⁸ Ausgehend von Diacetyl (**33**) wird 2,3-Bis(trimethylsiloxy)-butadien (**34**) erzeugt, welches dann mit Acetylen-dicarbonsäure-dimethylester in einer Diels-Alder-Reaktion zum Cyclohexadien-Derivat (**35**) reagiert. Dieses kann dann mit Brom zum 4,5-Dihydroxy-phthalsäure-dimethylester (**36**) oxidiert werden.

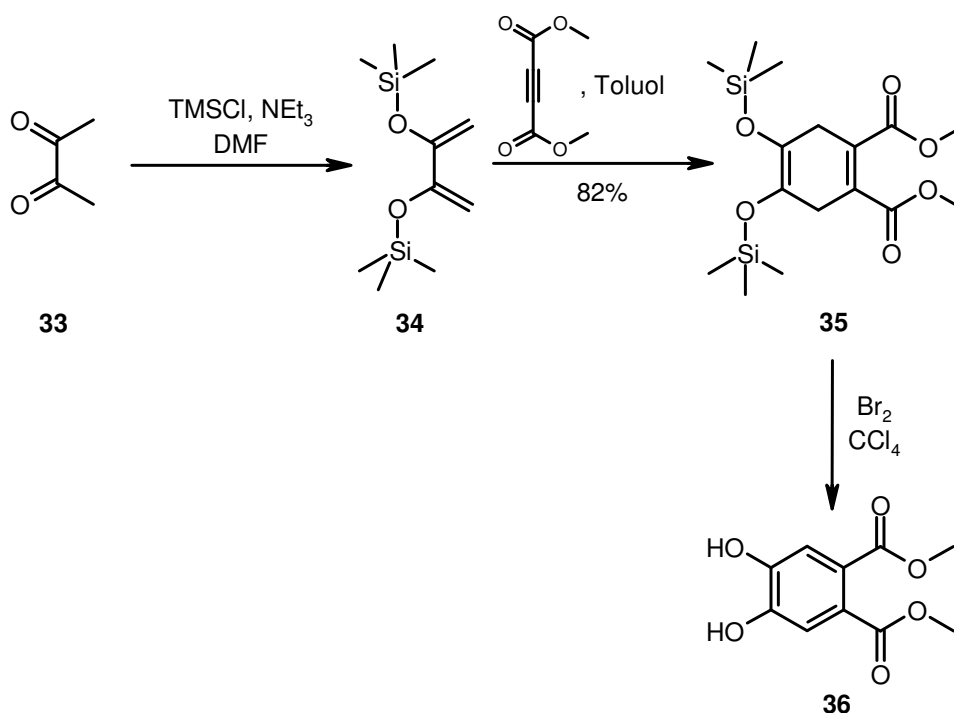


Abbildung 25: Synthese von 4,5-Dihydroxy-phthalsäure-dimethylester (**36**)

Synthese des Phthalimid-Derivates 37

Da im Laufe der Arbeiten festgestellt wird, dass die Synthese von Phthalimiden aus Phthalsäure-Derivaten und Aminosäuren keine befriedigenden Ausbeuten liefert, wird eine Synthesestrategie für einen fertigen Phthalimid-Synthesebaustein entwickelt. Ähnlich wie bei **36** soll auch hier eine Diels-Alder Reaktion zwischen **34** und in diesem Fall dem entsprechenden Maleimidderivat (**39**) das Grundgerüst liefern. Hierzu muss zunächst **39** dargestellt werden. Aufgrund der benötigten großen Mengen wird von dem in der Literatur³⁹ für ähnliche Moleküle beschriebenen Weg über eine Mitsunobu-Reaktion zwischen Maleimid und Hydroxyessigsäuremethylester abgesehen. Ausgehend von Maleinsäureanhydrid und Glycinmethylester-Hydrochlorid wird zunächst das Amid (**38**) erzeugt, welches dann thermisch zu **39** cyclisiert werden kann. Andere Bedingungen wie $\text{Ac}_2\text{O}/\text{HOAc}$ oder $\text{SOCl}_2/\text{Dichlormethan}$ sind nicht erfolgreich und führen zu schwarzem Teer. Die geringe Ausbeute bei diesem Schritt ist wahrscheinlich auf eine $Z \rightarrow E$ Isomerisierung als Nebenreaktion zurückzuführen, die die thermodynamisch stabilere Konformation liefert und einen Ringschluss unmöglich macht.

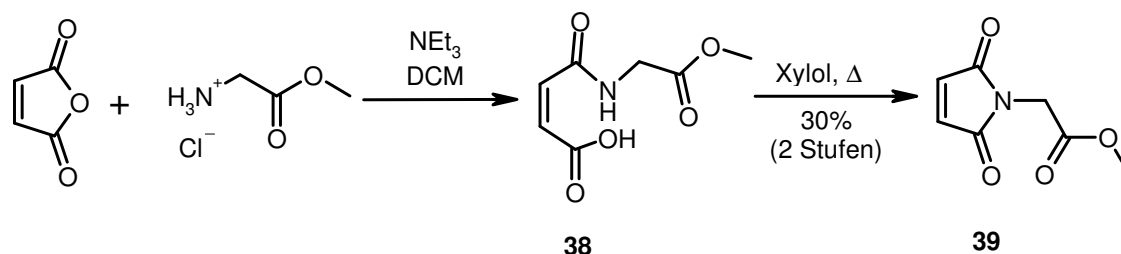


Abbildung 26: Synthese des Maleimid-Derivates **39**

Das bei der Diels-Alder-Reaktion zwischen **39** und **34** erzeugte Rohprodukt (**40**) kann nur mittels Kugelrohrdestillation aufgereinigt werden. Auch der Aromat (**41**), der durch die darauffolgende Oxidation von **40** mit Schwefel generiert wird, kann einzig mit dieser Destillationstechnik sauber gewonnen werden. Man kommt bei diesem Schritt der technisch im Labor machbaren Grenze (Destillationsbedingungen: 280°C , $1 \cdot 10^{-2}$ mbar) bereits recht nahe. Daher ist die Verwendung anderer Aminosäuren oder anderer Ester aufgrund deren höherer Masse und damit höheren Siedepunkts für diesen Syntheseweg schlecht möglich.

Nach Abspaltung der Silyl-Schutzgruppen erhält man **37** als leicht gelblichen Feststoff. Da noch Spuren des zur Oxidation verwendeten Schwefels im Produkt zu finden sind, muss noch

eine Behandlung mit CCl_4 im Ultraschallbad erfolgen. Hierbei löst sich der Schwefel, nicht jedoch das Produkt. Eine weitere Aufreinigung ist nicht nötig, man erhält **37** auf diesem Weg analysenrein.

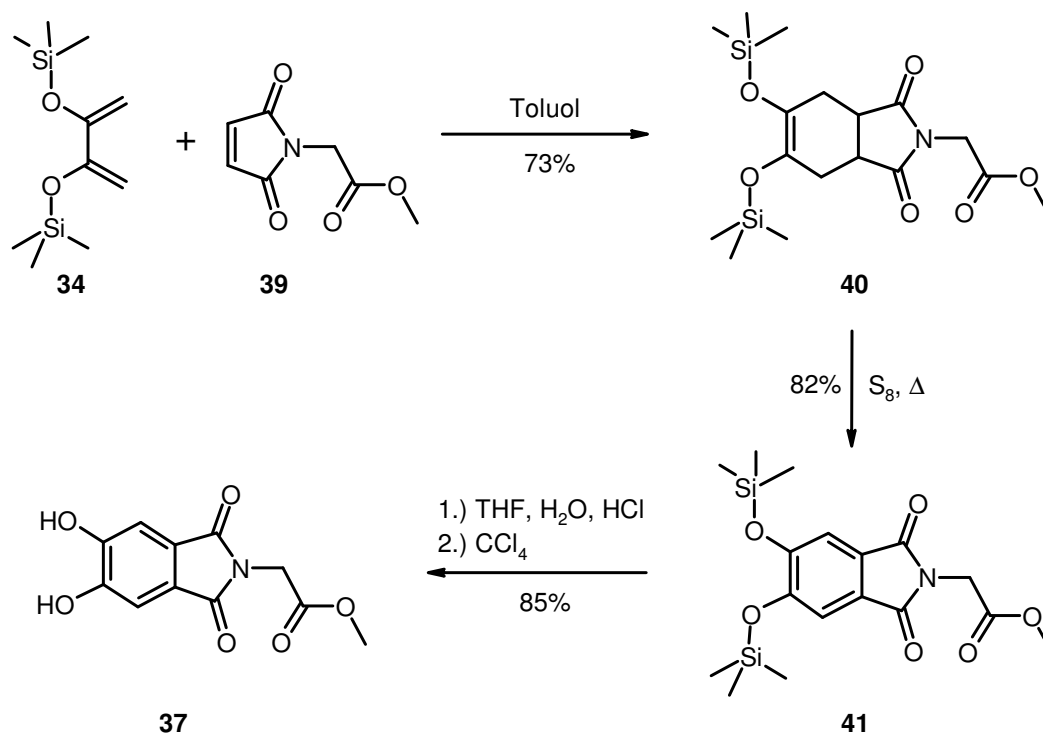


Abbildung 27: Synthesestrategie zu **37**

Bei den Versuchen zur Darstellung von **37** und anderen Dihydroxyphthalsäure-Derivaten wird festgestellt, dass als Aufreinigungsmethoden nur Destillation und Umkristallisation in Frage kommen. Chromatographie ist nicht möglich, da sich sowohl die bis-silyl-geschützten Derivate als auch die freien Dihydroxyphthalsäuren am Kieselgel zersetzen.

2.1.2. Monofunktionalisierte Kronenether

Um das Bindungsvermögen von Phthalimid-basierten Kronenethern zu testen und zusätzlich *N*-terminale Rezeptoren zu erhalten, werden zwei Verbindungen synthetisiert. Diese sind die einfachsten Vertreter der Mono- und Dibenzokronenether und sollten sich daher als Testsubstanzen gut eignen.

Monofunktionalisierter Kronenether 42

Das zur Synthese von **42** notwendige Pentaethylenglykol-dichlorid (**45**) ist nicht käuflich. Da Pentaethylenglykol teuer ist, wird **45** aus Ethylenglykol (**43**) und 1,1'- Dichlordiethylether (**44**) unter Phasentransferbedingungen dargestellt. Die Zyklisierung erfolgt unter den gängigen Bedingungen mit Kaliumcarbonat als Base und Kaliumiodid als Katalysator.³

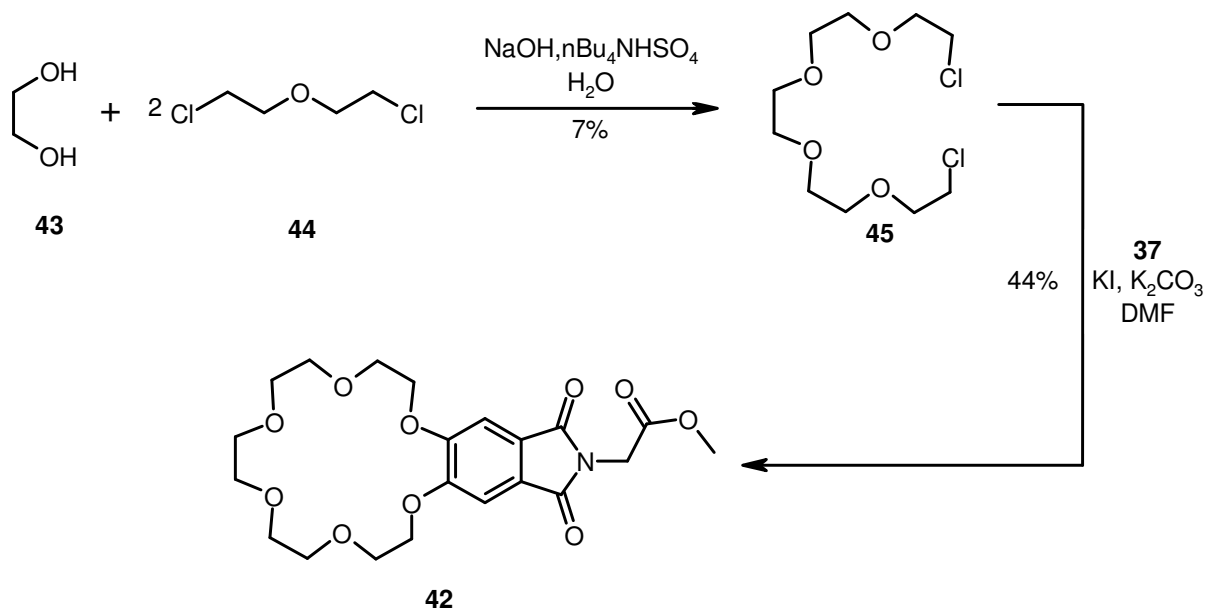


Abbildung 28: Synthesesequenz zu **42**

³ Kaliumiodid wirkt durch eine der eigentlichen Substitution vorgelagerten Finkelsteinreaktion. Das hierbei entstehende Iodalkan ist ein bedeutend besseres Elektrophil als das Chloralkan.

Monofunktionalisierter Kronenether **46**

Auch bei der Darstellung des Ausgangsmaterials (**48**) für die Synthese von **46** werden Phasentransferbedingungen eingesetzt. Der Nachteil der geringen Ausbeuten wird durch die Einsparung von ein bis zwei Syntheseschritten im Vergleich zu literaturbekannten Syntheserouten und der leichten Aufarbeitung mehr als kompensiert. Der im 5-10-fachen Überschuss verwendete 1,1'-Dichlordiethylether (**44**) ist zwar als strukturell eng Verwandter zum chemischen Kampfstoff *S*-Lost stark toxisch, stellt jedoch bei sorgsamer Arbeitsweise keine übermäßige Gefahr dar. Der Überschuss kann zudem durch Destillation aus dem Rohprodukt zurückgewonnen und wiederverwendet werden.

Die auch bei der Synthese von **42** verwendeten Bedingungen liefern bedeutend bessere Ausbeuten an **46**.

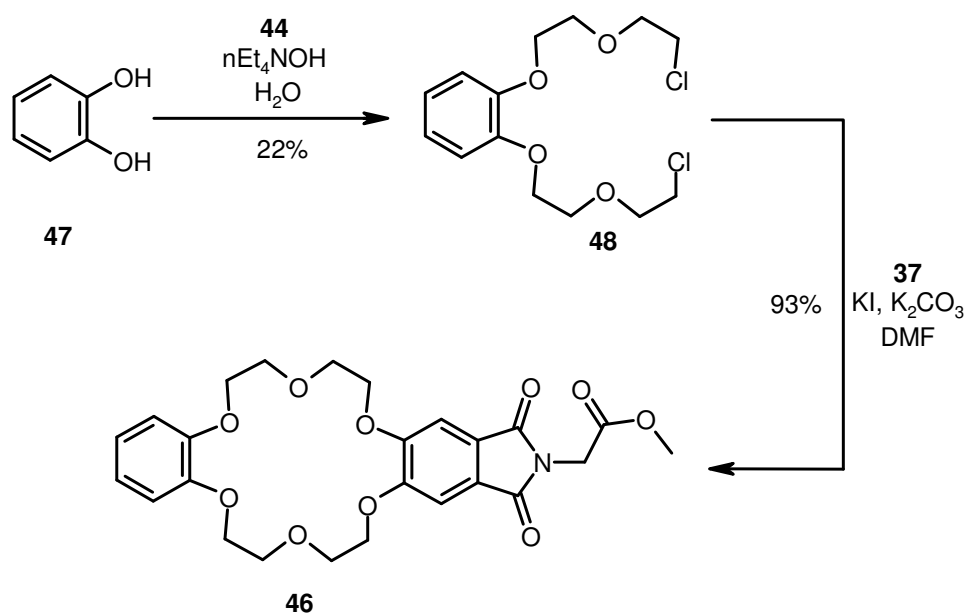


Abbildung 29: Darstellung von **46**

Auffallend bei beiden monofunktionalisierten Kronenethern **42** und **46** ist, dass sie relativ schwer löslich sind. Sie lösen sich in ausreichender Menge nur in Chloroform und Dichlormethan, schlechter bereits in DMF und DMSO. Hierdurch treten bei der Säulenchromatographie der Rohprodukte Probleme auf, die Substanzen quantitativ wiederzugewinnen. Da **42** noch schlechter löslich ist als **46**, liegt eventuell hier der Grund für die verminderte Ausbeute.

2.1.3. Triazin-KEAS

Der Aufbau der Triazin-KEAS erfolgt aus zwei Gründen. Zum einen ist durch die Verwendung von Trichlor-triazin (**49**) oder entsprechender monofunktionalisierter Derivate der Ringschluss durch nukleophile aromatische Substitution aufgrund des elektronenarmen Charakters des Triazin-Aromaten sehr erleichtert. Somit ergibt sich eine alternative Darstellungsmöglichkeit von Kronenethern zu der sonst verwendeten nukleophilen Substitution am sp^3 Kohlenstoff-Atom.

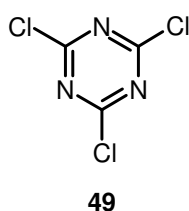


Abbildung 30: Trichlor-triazin (**49**)

Der zweite Grund für die Verwendung von Triazinen ist, dass die erhaltenen Kronenether mit einer Ringgröße von 19 Atomen nur ein Atom größer sind als 18-Krone-6 Derivate. Dieses zusätzliche Atom ist ein Stickstoff des Triazingerüsts, so dass ein bindungsverstärkender Effekt durch das freie Elektronenpaar des Stickstoffes möglich ist.

Versuch der Darstellung der Triazin-KEAS mit Trichlor-triazin

Die Darstellung einer Triazin-KEAS wird zunächst direkt mit Trichlor-triazin (**49**) versucht. Verbindung **49** besitzt drei nukleophile Zentren, wodurch die Bildung von Polymeren begünstigt werden könnte. Da jedoch die Reaktivität der Triazine mit zunehmender Substitution der Chloratome durch Sauerstoff-Substituenten abnimmt, besteht die Möglichkeit, dass sich durch Wahl von geeigneten Bedingungen die Dreifachsubstitution unterdrücken lässt. Zur Darstellung des zur Reaktion mit **49** benötigten Nukleophils wird zunächst aus **36** und zwei Diethylenglykolmonotosylat-Molekülen (**50**) **51** dargestellt. Die Reaktion mit **49** und der schwachen Base K_2CO_3 zeigt keinen Umsatz. Anders hingegen bei Verwendung von Natriumhydrid. Hier kann als Produkt einzig der Methoxy-substituierte

Kronenether (**52**) isoliert werden. Offensichtlich kommt es unter den gewählten Reaktionsbedingungen zur Umesterung und damit zur Freisetzung von Methanolat. Dieses substituiert das dritte Chloratom am Triazin. Folglich ist die Darstellung von Triazin-KEAS auf diesem Weg nicht praktikabel.

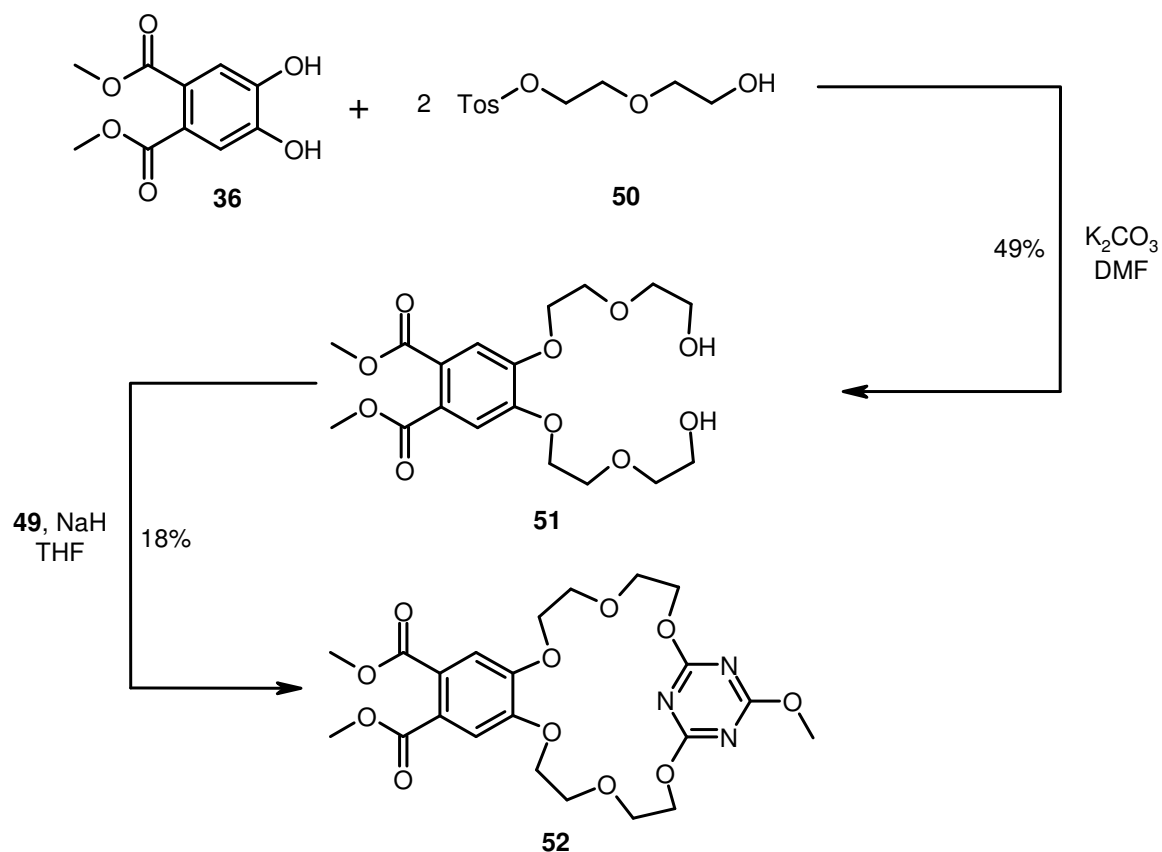


Abbildung 31: Synthese von **52**

Darstellung der Triazin-KEAS mit Sauerstoff-funktionalisiertem Dichlor-triazin

Die Besetzung einer der drei reaktiven Stellen des Triazins mit einem Sauerstoffs substituenten vermindert die Wahrscheinlichkeit der Bildung von Oligo- oder Polymeren. Außerdem kann durch Wahl geeigneter Substituenten bereits die Aminofunktionalität der KEAS in das Molekül eingebaut werden. Trichlor-triazin (**49**) wird hierfür mit *N*-Boc-geschütztem Aminoethanol (**53**) unter Phasentransferkatalyse zum Ringschlussreagenz **54** umgesetzt. Die Bildung des Kronenethers (**55**) gelingt unter Rückflussbedingungen in Acetonitril mit Kaliumcarbonat als Base. Bei der darauffolgenden versuchten Verseifung der

Phthalsäureester kann jedoch kein Produkt isoliert werden. Die massenspektroskopische Untersuchung der Reaktionsmischung ergibt, dass der Angriff der Hydroxid-Ionen am Triazin erfolgt und somit den Kronenether zerstört. Die Verwendung von **55** als Kronenetherbaustein ist daher aufgrund der Basenlabilität nicht möglich.

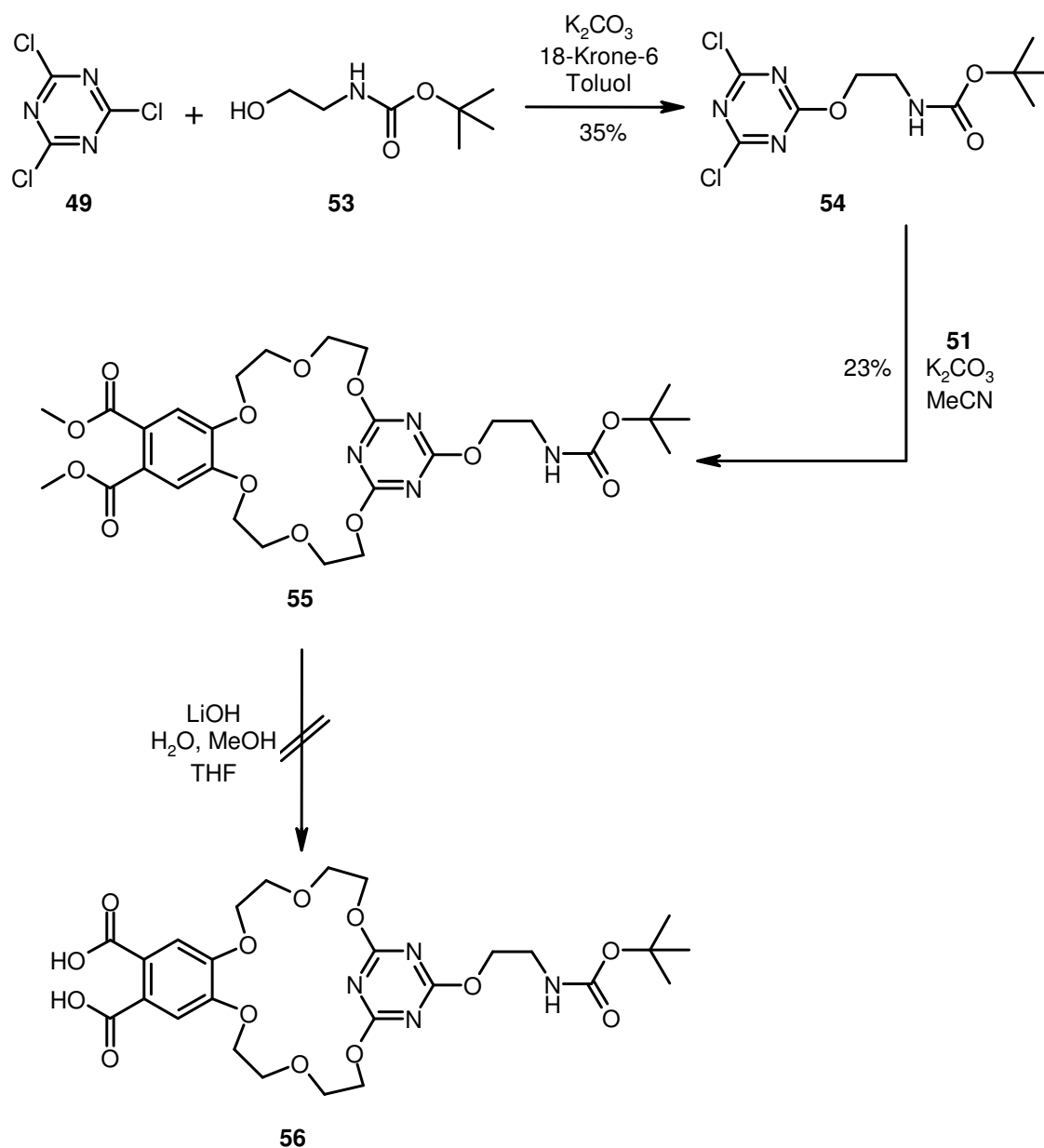


Abbildung 32: Darstellung von **55** mit anschließend versuchter Verseifung zu **56**

Darstellung der Triazin-KEAS durch Alkylierung

Zur Verringerung der Basenlabilität des Triazingerüsts muss ein Stickstoffsubstituent eingebracht werden. Um die C_2 -Symmetrie des Kronenethers nicht zu zerstören, geschieht dies am besten an dem Kohlenstoffatom, das nicht Teil des Kronenethergrundgerüsts ist. Die Stabilisierung durch die mesomeren Donoreigenschaften des Stickstoffs verhindert den nukleophilen Angriff von OH^- . Allerdings wird dadurch auch der für den Aufbau des Kronenethers benötigte nukleophile Angriff auf das Triazin unter den geforderten milden Bedingungen verhindert. Daher wird der Weg über die Alkylierung der phenolischen Hydroxygruppen von **36** gewählt. Als Aminoende der KEAS wird *Boc*-geschütztes Hydrazin (**57**) verwendet, das quantitativ mit **49** zu **58** umgesetzt werden kann. Durch die erfolgte Stabilisierung des Dichlor-triazins durch den Stickstoffsubstituenten erfordert die darauffolgende Reaktion mit mono-THP-geschütztem Diethylenglykol drastischere Bedingungen als bei Sauerstoff-funktionalisierten Dichlor-triazinen. Die geringe Ausbeute über zwei Stufen nach der anschließenden sauren Entfernung der THP-Schutzgruppen zu **59** spiegelt ebenfalls die erschwerte Substitution wieder. Mit der aus **59** gewonnenen ditosylierten Verbindung (**60**) gelingt es jedoch nicht den gewünschten Kronenether (**61**) zu erzeugen. Bei der Untersuchung des Reaktionsgemisches mit massenspektroskopischen Methoden werden neben vielen nicht identifizierbaren Nebenprodukten und Spuren von **61** auch Derivate von **60** gefunden, bei denen ein Tosylat gegen OH^- ausgetauscht ist. Dies kann mit einem nukleophilen Angriff eines Triazin-Stickstoffs auf das Alkyltosylat und anschließendem Austausch gegen OH^- bei der wässrigen Aufarbeitung erklärt werden. Aufgrund der räumlichen Nähe und der langen Reaktionszeiten scheint selbst die geringe Nukleophilie der Triazinstickstoffe für diese Reaktion ausreichend.

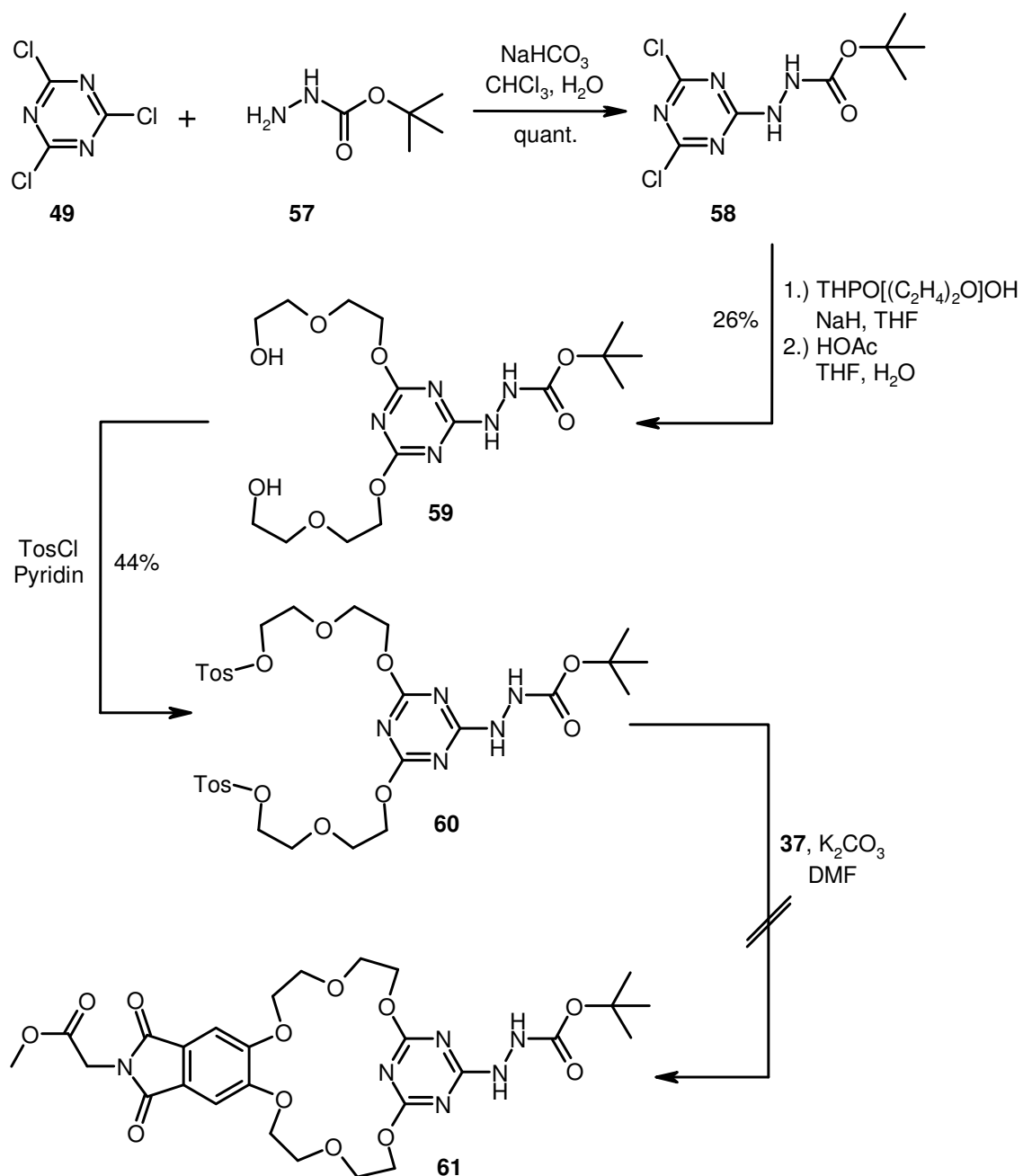


Abbildung 33: Darstellungsversuch der KEAS 61

Darstellung der Triazin-KEAS aus Phenolat-substituiertem Dichlor-triazin

Aus den vorangegangenen Syntheseversuchen zur Darstellung von Triazin-KEAS können folgende Schlüsse gezogen werden:

- Die Darstellung der Triazin-KEAS mittels nukleophiler Substitution an der Ethylenglykolkette ist nicht praktikabel.
- Als Synthon für die Kronenethersynthese über die aromatische nukleophile Substitution kommen Trichlor-triazine wegen ihrer zu hohen und Amin-substituierte Dichlor-triazine wegen ihrer zu geringen Reaktivität nicht in Frage.
- Triazin-KEAS müssen mindestens eine Aminfunktionalität am Triazingerüst besitzen, um eine ausreichende Basenstabilität zu gewährleisten.

Aus diesen Erkenntnissen wird gefolgert, dass nur ein Syntheseweg mit einem Sauerstoff-funktionalisiertem Dichlor-triazin zum Ziel führt. Der durch eine Etherbrücke mit dem Triazingerüst verbundene Substituent muss im Zuge der weiteren Synthese gegen einen Stickstoff-Substituenten ausgetauscht werden. Der Einsatz einer Gruppe, die mittels einer nukleophilen aromatischen Substitution durch ein Amin ersetzt werden kann, ist daher nötig. Aus der Literatur⁴⁰ ist bekannt, dass sich Alkoxysubstituenten nur schlecht und unter Auftreten von Nebenreaktionen durch Stickstoffnukleophile substituieren lassen. Bei Aryloxysubstituenten verläuft die Reaktion bedeutend besser und unter mildereren Bedingungen. Die erhöhte Substituierbarkeit von Aryloxygruppen gewährleistet zudem, dass die beiden Alkoxysubstituenten des Kronenetherrings nicht angegriffen werden und somit das Kronenethergerüst intakt bleibt.

Die Synthese wird mit Phenolat-substituiertem Dichlor-triazin (**62**) durchgeführt, da dieses im Vergleich zum Nitrophenolat-Derivat gute Löslichkeit bei ausreichender Reaktivität zeigt. Das Dichlor-triazinderivat (**62**) kann in befriedigenden Ausbeuten mit **51** zum Kronenether **63** umgesetzt werden. Als Aminoende-Synthon für die Triazin-KEAS wird in diesem Fall mono-*Boc*-geschütztes Ehtylendiamin (**64**) gewählt.

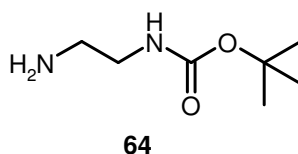


Abbildung 34: Edukt **64** zur Darstellung des Aminoendes der Triazin-KEAS

Die Substitution in siedendem Chloroform verläuft zwar trotz Zugabe von DMAP als Katalysator langsam, aber mit hohen Ausbeuten. Auch die darauffolgende Entschützung der Ester ist in guten Ausbeuten ohne Verlust des Kronenethergerüsts möglich. Somit gelingt es auf diesem Weg, einen Triazin-KEAS-Baustein darzustellen.

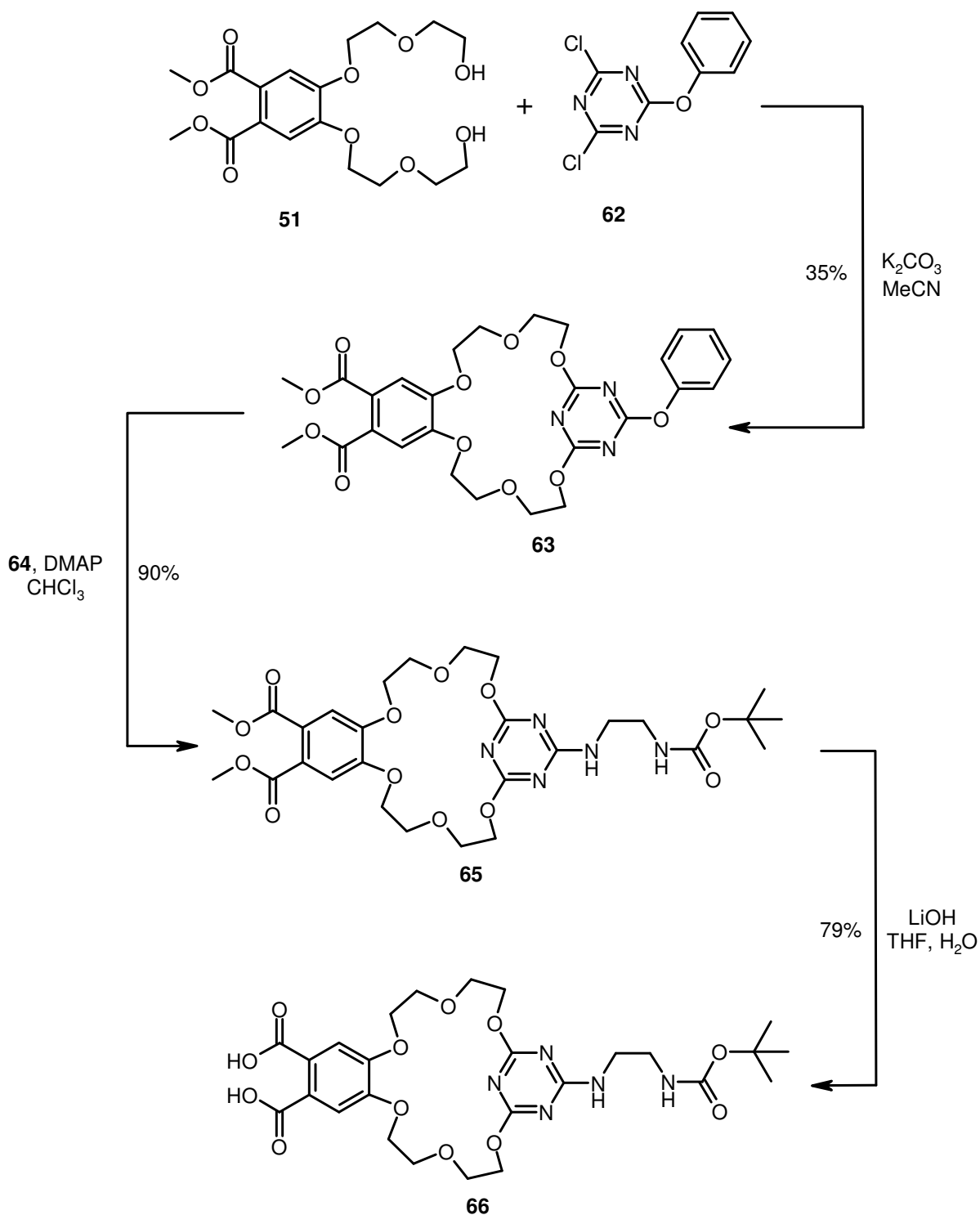


Abbildung 35: Darstellung der Triazin-KEAS **65** mit anschließender Verseifung zu **66**

2.1.4. Dibenzo-KEAS

Dibenzo-KEAS 67

Verbindung **67** wird als die am leichtesten zugängliche C₂-symmetrische Dibenzo-KEAS erachtet. Die Ringgröße wird mit 25 Ringatomen größer gewählt, um eventuell auftretende repulsive Kräfte zwischen dem Wasserstoff am Aromaten, der in den Ring zeigt, und dem Ammonium-Ion-Gast zu vermindern.

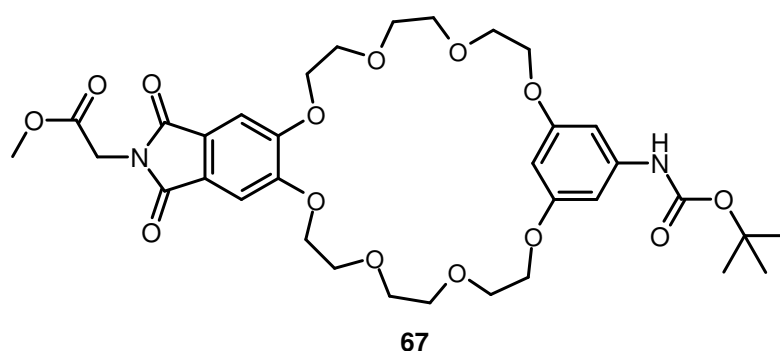


Abbildung 36: Dibenzo-KEAS (**67**)

Zunächst muss das Aminoende der KEAS synthetisiert werden. Hierzu wird 3,5-Diacetoxibenzoessäure (**68**) in einer mehrstufigen Reaktion zunächst mit Thionylchlorid in das Säurechlorid überführt, dann mit Natriumazid in das entsprechende Säureazid. Beim Erhitzen dieser Verbindung in Toluol erfolgt unter Stickstoffabspaltung eine Curtius-Umlagerung, bei der sich aus dem intermediär entstehenden Nitren ein Isocyanat bildet. Dieses reagiert mit *tert*-Butanol zum *Boc*-geschützten Anilinderivat (**69**), welches leicht mit wässrigem Ammoniak in Methanol zum Baustein (**70**) entschützt werden kann.

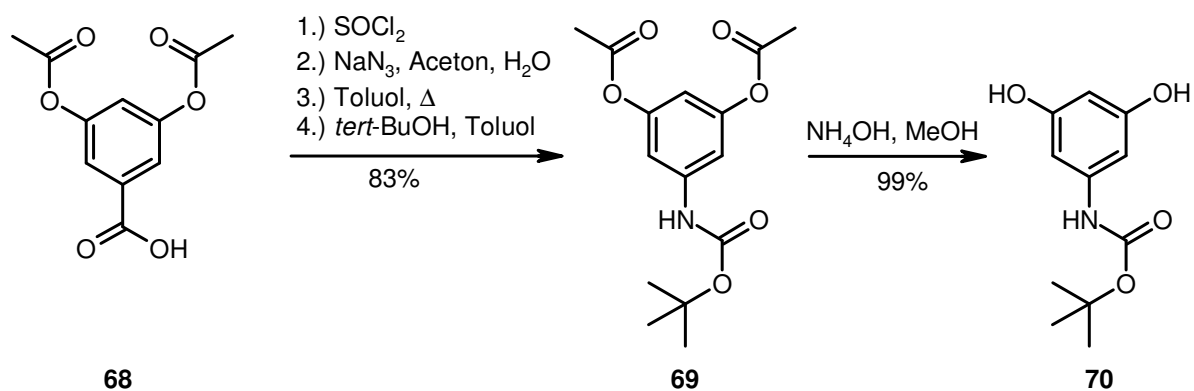


Abbildung 37: Darstellung des Bausteines **70**

Das Carboxyende der KEAS wird ausgehend von dem Edukt **36** synthetisiert. Hierzu werden die beiden phenolischen OH-Gruppen mit Triethylenglykol-monotosylat (**71**) derivatisiert. Die Reaktion des daraus entstehenden Produktes (**72**) mit *p*-Toluolsulfonylchlorid überführt die freien OH-Funktionen in die entsprechenden Tosylate (**73**) und generiert somit bessere Abgangsgruppen für die nukleophile Substitution.

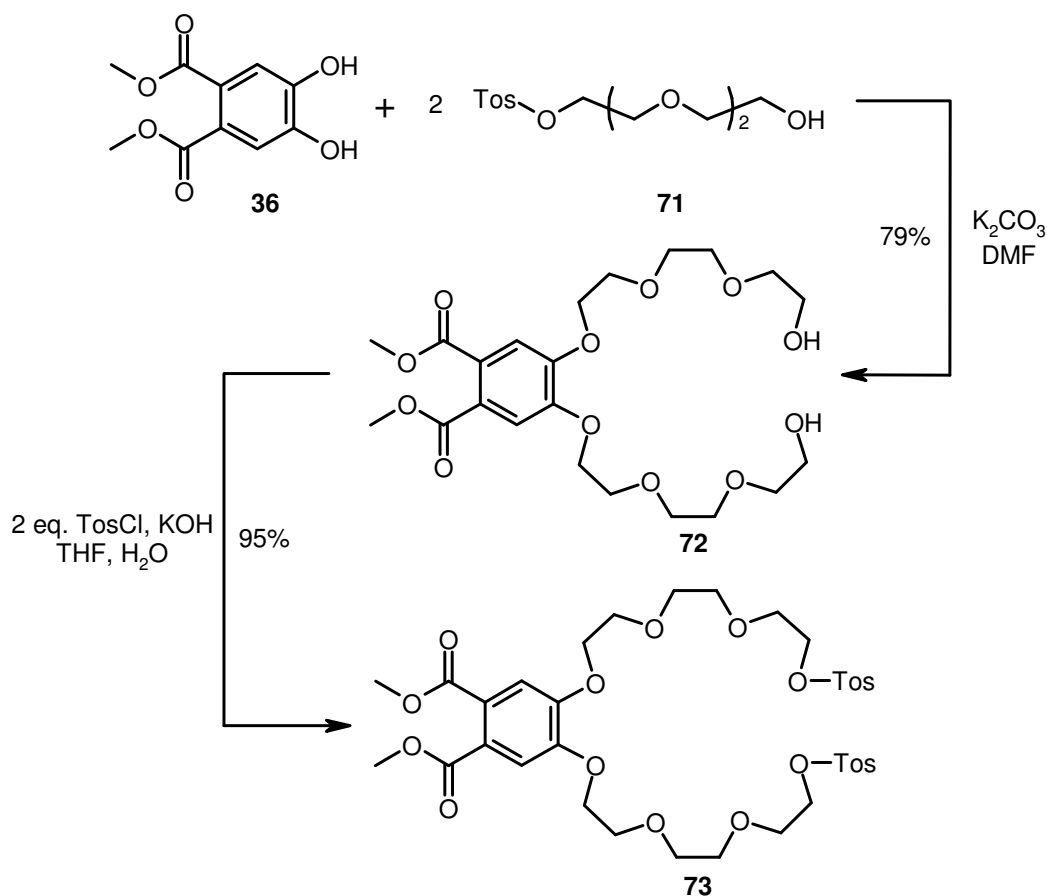


Abbildung 38: Syntheseroute zum Carboxyendebaustein **73**

Der Ringschluss zwischen **70** und **73** erfolgt unter Hochverdünnungsbedingungen und liefert den Kronenether **74** in befriedigenden Ausbeuten. Die folgende Esterverseifung mit Lithiumhydroxid in Methanol liefert nach saurer Aufarbeitung das Phthalsäurederivat **75**, welches unter Standardkupplungsbedingungen mit Glycinethylester-hydrochlorid zur KEAS **67** umgesetzt wird. Leider sind die hierbei zu erzielenden Ausbeuten nicht befriedigend, daher wird bei den weiteren Synthesen meist das Phthalimid **37** als Edukt verwendet.

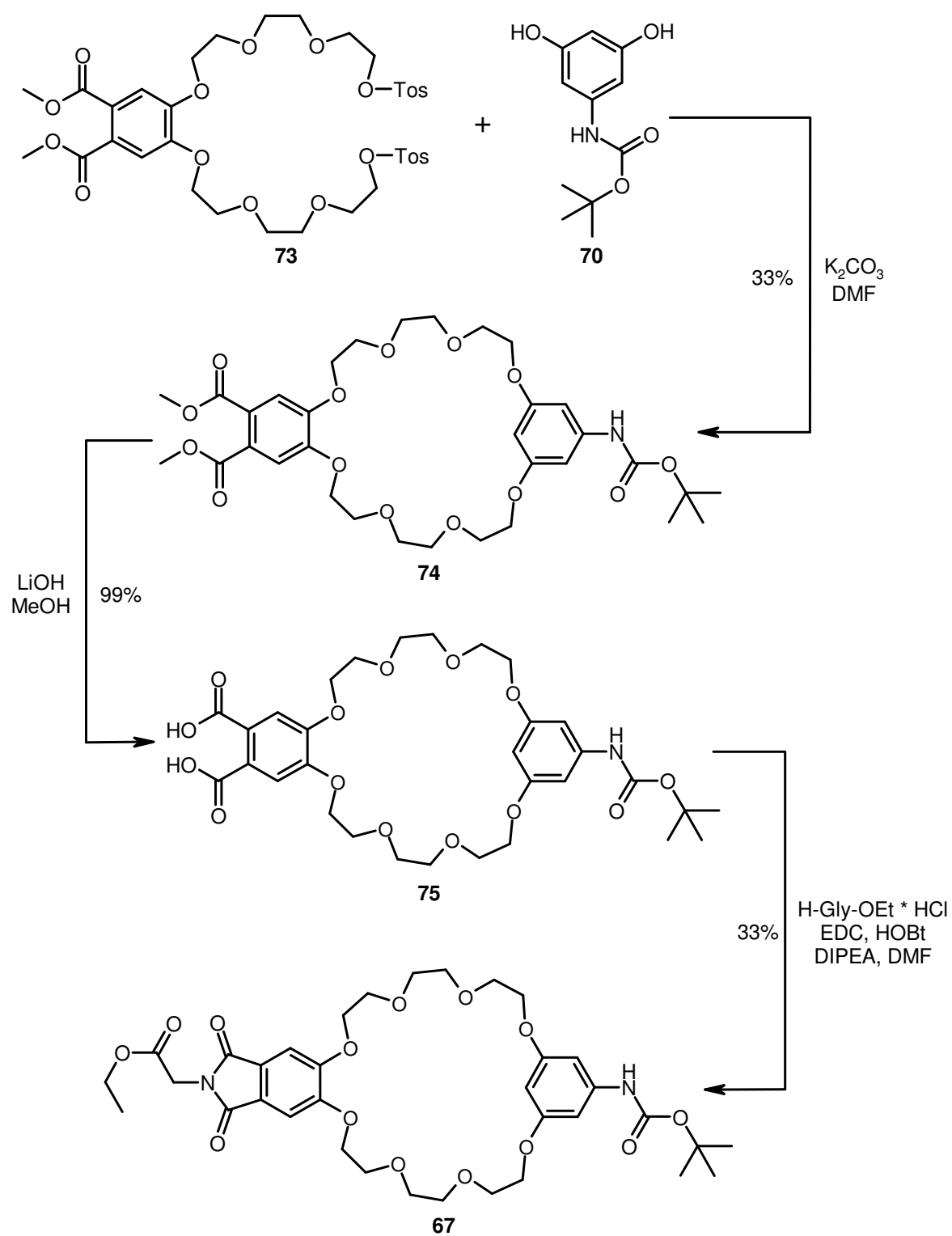


Abbildung 39: Synthese der Dibenzo-KEAS **67**

Dibenzo-KEAS 87

Aus den schlechten Ergebnissen der Bindungsstudien (siehe Kapitel 2.2.4) für **67** wird gefolgert, dass das bei **67** in den Ring zeigende aromatische Wasserstoffatom ungünstig ist und daher vermieden werden muss. Daher soll ein zusätzliches Sauerstoffatom diese Stelle einnehmen, um einen weiteren Wasserstoffbrücken-Akzeptor anzubieten und den Ring etwas zu verkleinern. Zunächst wird eine Syntheseroute mit **37** als Baustein angedacht und das hierfür nötige Synthon für das Aminoende dargestellt. Ausgehend vom käuflichen Gallussäureethylester (**76**) wird die mittlere Hydroxygruppe benzylgeschützt (**77**). Die beiden verbleibenden Phenolfunktionen werden mit **71** zu **78** substituiert. Um aus dem Ester ein Aminoende zu generieren, wird in diesem Fall Hydrazin herangezogen, wodurch das Hydrazinamid (**79**) erzeugt wird, welches mit *Boc*-Anhydrid geschützt wird (**80**). Die darauffolgende Tosylierung (**81**) der verbleibenden freien aliphatischen Alkoholgruppen ist nur wenig erfolgreich. Die beste erzielte Ausbeute liegt bei 25 %, totaler Ausbeuteverlust ist jedoch auch möglich. Ein Grund hierfür kann nicht gefunden werden, andere Tosylierungsbedingungen sind nicht erfolgreich. Daher wird dieser Weg verworfen.

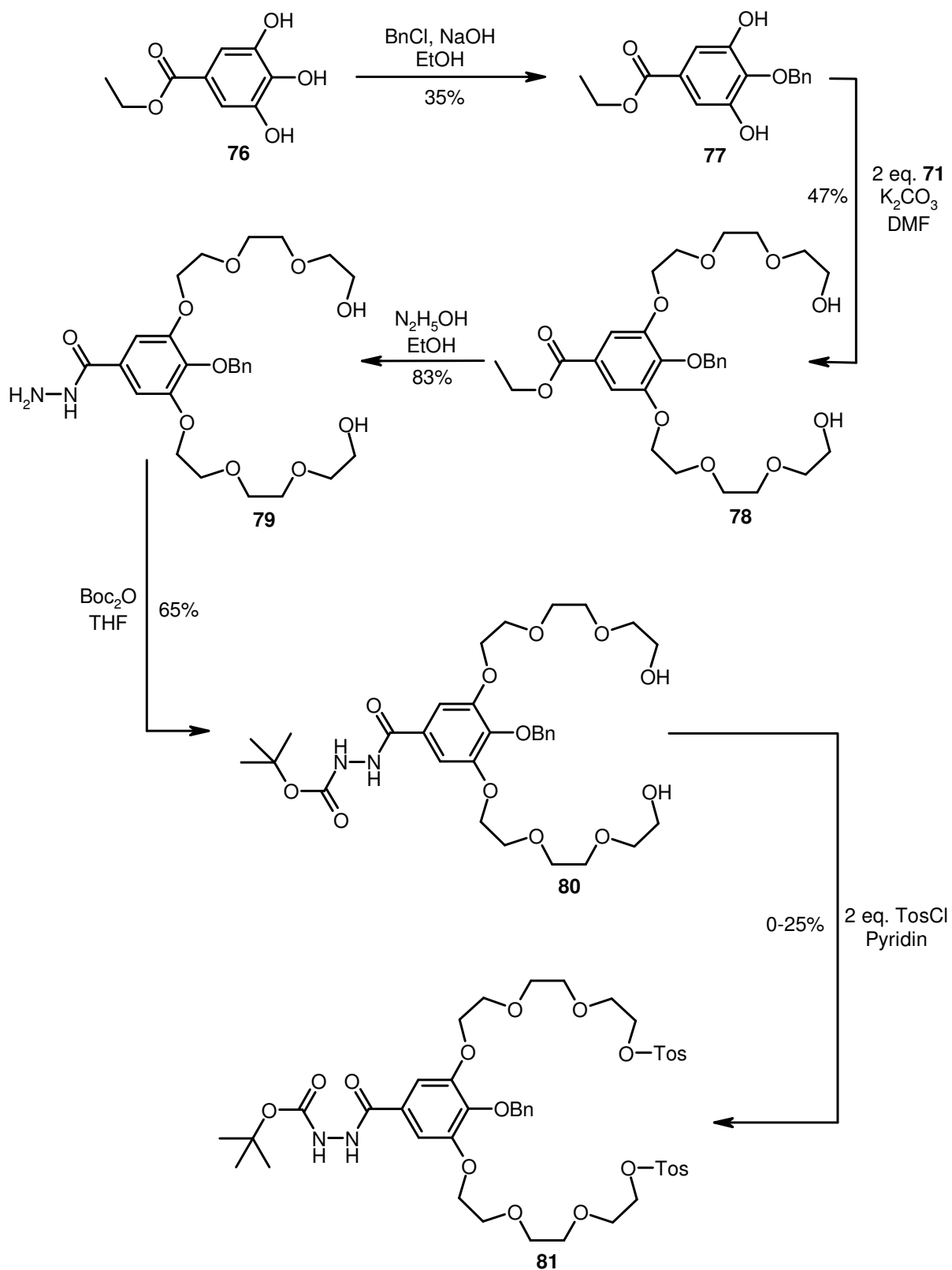


Abbildung 40: Syntheseweg zu Verbindung **81**

Da in **78** bereits ein mögliches Carboxyende vorhanden ist, wird angedacht, den Phthalimidteil zum Aminoende umzufunktionalisieren. Hierzu wird **82** als Synthesebaustein ausgewählt.

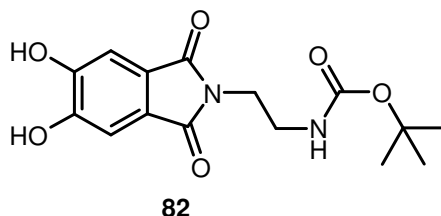


Abbildung 41: Synthesebaustein **82**

Die Darstellung von **82** ist über die Diels-Alder-Route mit anschließender Oxidation mit Schwefel nicht möglich, da sich die dabei entstehenden Zwischenprodukte aufgrund der erhöhten Masse im Vergleich zu **40** und **41** nicht mehr mit Kugelrohrdestillation aufreinigen lassen. Zudem ist fraglich, ob die *Boc*-Gruppe die hohen Temperaturen der Schwefeloxidation übersteht. Daher wird **82** aus **36** synthetisiert. Zunächst werden die beiden Ester hydrolysiert (**83**). Durch Umsetzung mit Acetylchlorid und Essigsäureanhydrid wird neben der Acetylschätzung der OH-Gruppen auch die Bildung des Phthalsäureanhydrides (**84**) erreicht. Dieses wird dann mit **64** intermediär zum Phthalsäureamid umgesetzt. Die Zyklisierung zum Imid (**85**) erfolgt mit HMDS unter Zinkbromid-Katalyse nach einer Vorschrift von *Reddy et al.*⁴¹ Leider können auch mit diesen Bedingungen keine besseren Imidausbeuten erzielt werden. Verbindung **82** wird durch basische Abspaltung der Acetylschutzgruppen aus **85** erzeugt.

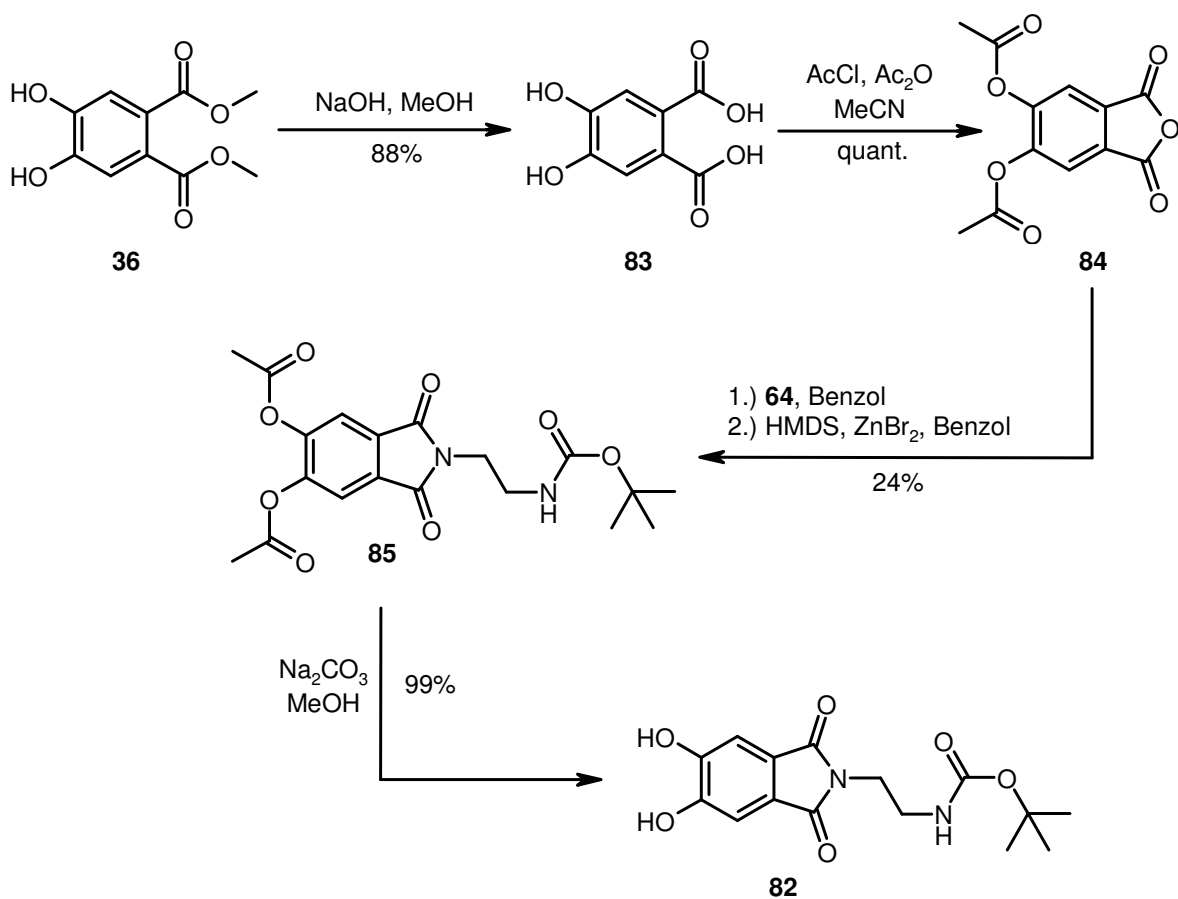


Abbildung 42: Darstellung des Synthesebausteines **82**

Nach Tosylierung von **78** zu **86** und Umsetzung mit **82** kann der Kronenether **87** in einer Ausbeute von 28 % erhalten werden.

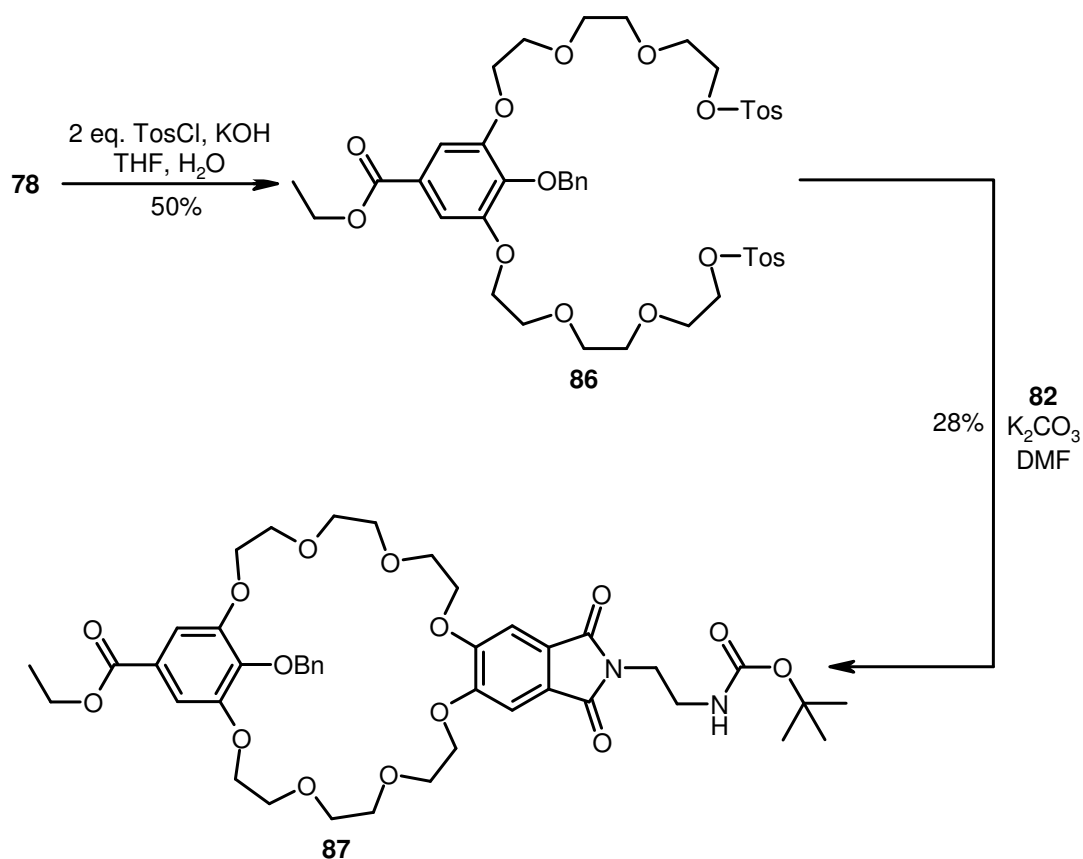


Abbildung 43: Darstellung der KEAS **87**

Dibenzo-KEAS 88

Ausgehend von **87** kann durch hydrogenolytische Spaltung mit Wasserstoff und Palladium auf Aktivkohle die KEAS **88** dargestellt werden. Diese zeichnet sich durch die freie OH-Position aus, die dem Molekül einen leicht aciden Charakter verleiht. Auf die interessanten Eigenschaften dieser Verbindung wird in Kapitel 2.2.4 näher eingegangen.

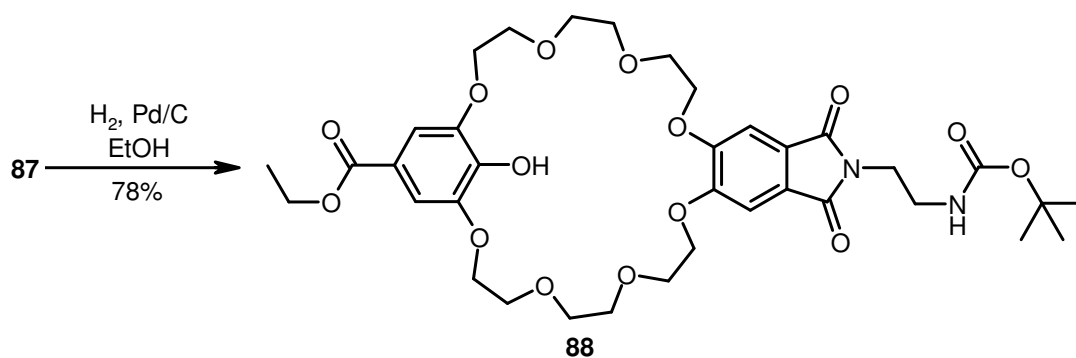


Abbildung 44: Synthese der KEAS **88**

2.1.5. Monobenzo-KEAS

Monobenzo-KEAS 89

Als grundlegendes Edukt für die Synthese dieser KEAS dient – neben **37** als aromatischer Teil – die natürliche Weinsäure (**90**). Diese wird zunächst nach Literaturvorschriften in das Succinimid⁴² (**91**), und anschließend durch Reduktion mit Lithiumaluminiumhydrid in das entsprechende Pyrrolidinderivat⁴³ (**92**) überführt. Hydrierung mit Wasserstoff und Palladium auf Aktivkohle als Katalysator liefert die *N*-Benzyl geschützte Verbindung **93**. Um *N*-Boc-3,4-Dihydroxypyrrolidin (**94**) zu erhalten, wird mit *Boc*-Anhydrid umgesetzt. Die nachfolgende Synthesestufe wird in Anlehnung an die Literatur⁴⁴ unter Phasentransferbedingungen durchgeführt.

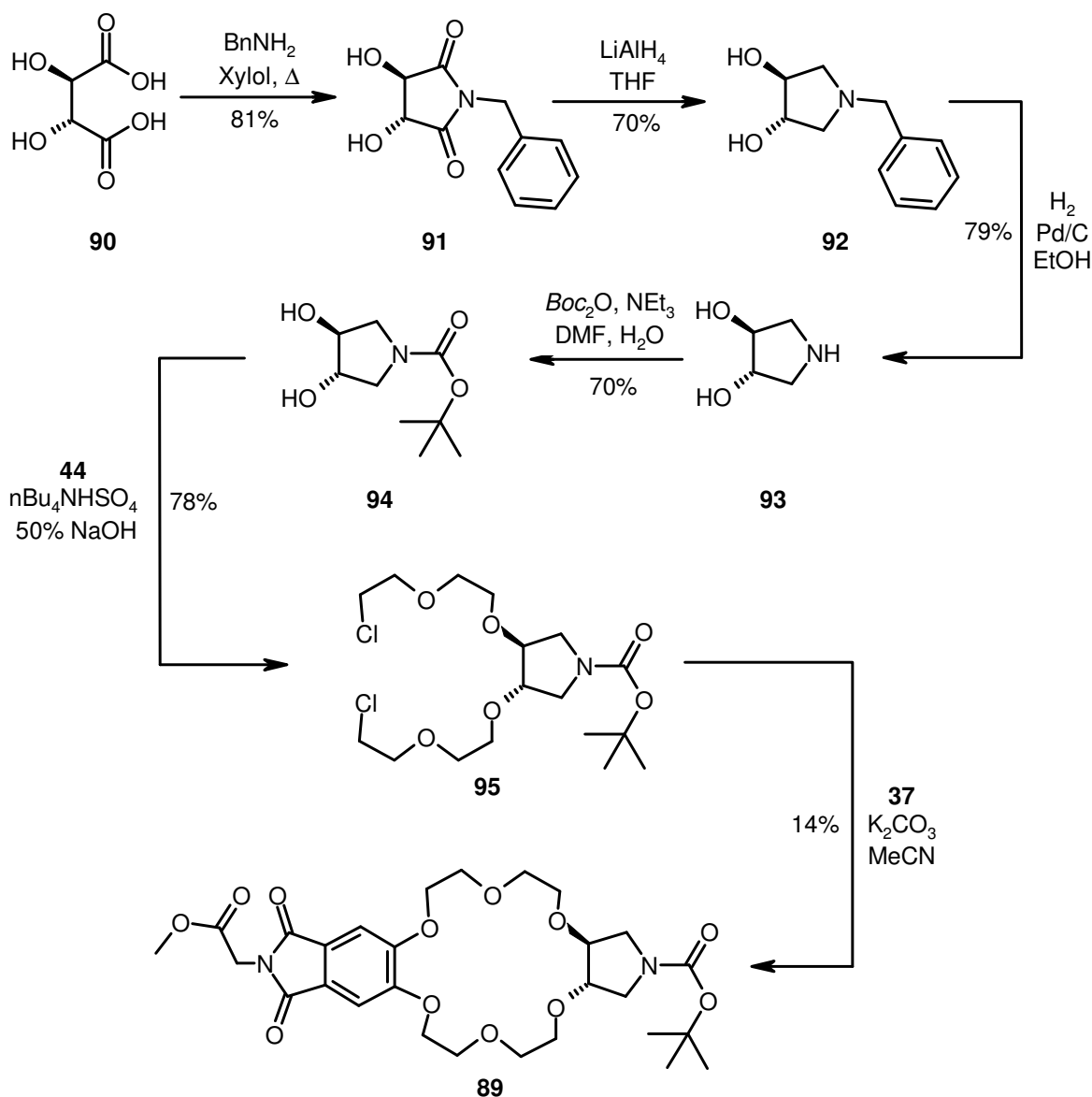


Abbildung 45: Synthesesequenz zu KEAS **57**

Wie im Kapitel 2.1.2 bereits beschrieben, ist der Einsatz von 1,1'-Dichlordiethylether zwar nicht gefahrlos, dennoch ist dessen Verwendung hier aufgrund des geringen synthetischen Aufwandes und der hohen erzielbaren Ausbeuten von großem Vorteil. Die Dialkylierung bei Raumtemperatur liefert nach 2 Tagen den Kronenether-Vorläufer **95**. Die Umsetzung dieser Verbindung mit **37** generiert die erwünschte KEAS **89**, allerdings nur in der nicht befriedigenden Ausbeute von 14 %. Wahrscheinlich ist die ungünstige Geometrie am 5-Ring hierfür verantwortlich. Um sicher zu gehen, dass bei den durchgeführten Umsetzungen keine Racemisierung eintritt, werden sowohl von **94** als auch von **89** Röntgenstrukturaufklärungen durchgeführt.

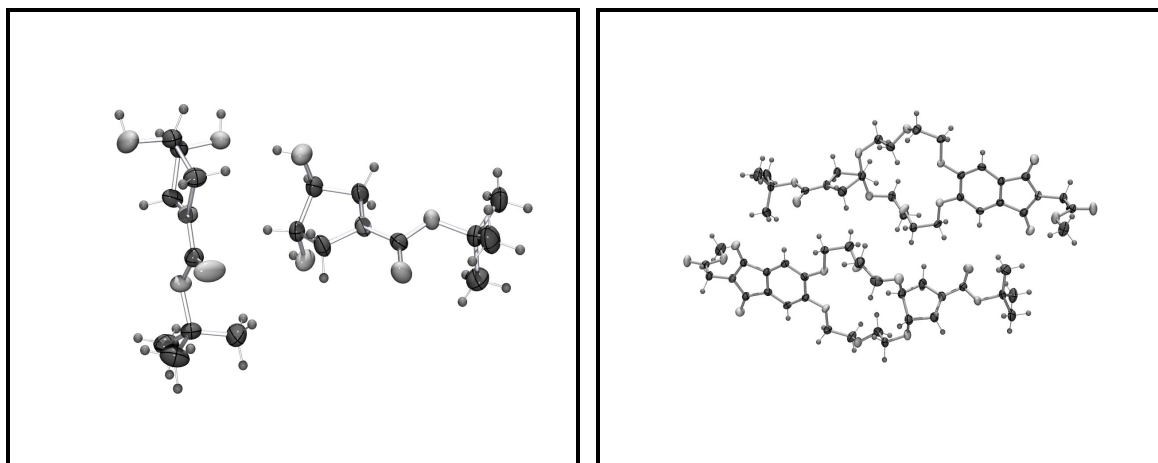


Abbildung 46: Ortep-Darstellungen der Röntgenstrukturen von **94** (links) und **89** (rechts)
[die Elementarzellen enthalten je 2 Moleküle]

Sowohl bei **94** als auch bei **89** zeigen die Röntgenstrukturen eindeutig, dass sich keine Änderung der Stereochemie im Zuge des Syntheseverlaufes ereignet. Bei beiden liegt die ursprüngliche R,R-Konfiguration der Weinsäure vor. Anhand der Kristallstruktur von **89** wird auch deutlich, dass die Sauerstoffe des Pyrrolidingerüsts einen Diederwinkel von nahezu 180° einnehmen. Durch diese räumliche Trennung ist es unwahrscheinlich, dass beide Sauerstoffe gut zur Bindung von Gastmolekülen beitragen können.

Monobenzo-KEAS 96

Ausgehend von dem schon zur Synthese von **67** verwendeten Ditosylat **73** kann mit mono-*Boc*-geschütztem Ethylendiamin (**64**) in einem Schritt die KEAS **96** in ausgezeichneten Ausbeuten von nahezu 80 % dargestellt werden. Entscheidend für den Erfolg dieser Synthese zeigt sich die Wahl des Lösungsmittels. Versuche in DMF sind generell erfolglos, es können maximal Spuren von **96** in der massenspektroskopischen Untersuchung des Rohproduktes gefunden werden. In Acetonitril hingegen verläuft die Umsetzung gut. Zugabe von wenig Wasser erhöht die Löslichkeit von Kaliumcarbonat und Kaliumiodid und wirkt sich ebenfalls günstig auf den Reaktionsverlauf aus.

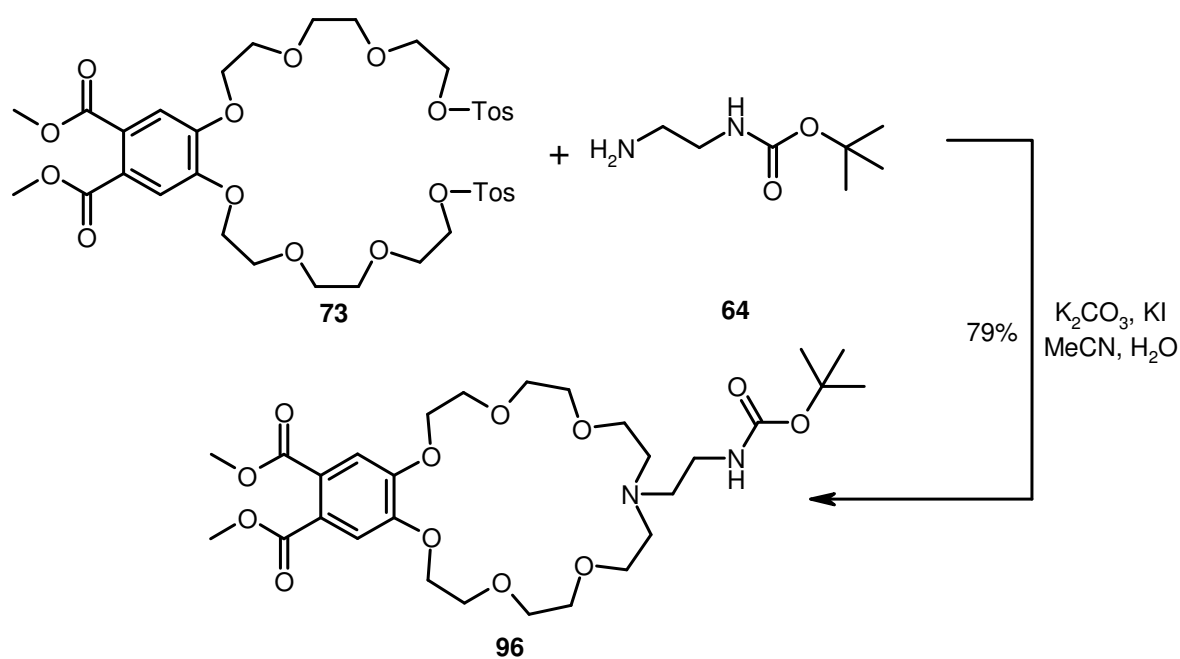


Abbildung 47: Darstellung der KEAS **96**

Monobenzo-KEAS 97

Diese Phthalimid-KEAS (**97**) wird auf einem sehr ähnlichen Weg wie **96** dargestellt. Hierzu muss zunächst **37** mit **71** zur dialkylierten Verbindung **98** umgesetzt werden, welche dann durch Tosylierung zum Kronenether-Vorläufer **99** wird. Die Umsetzung mit dem Amin **64** liefert **97** in etwas geringeren Ausbeuten als bei **96**. Wasser wird in diesem Fall aufgrund der höheren Gefahr der Hydrolyse des Phthalimids im Vergleich zum Diester nicht zugesetzt.

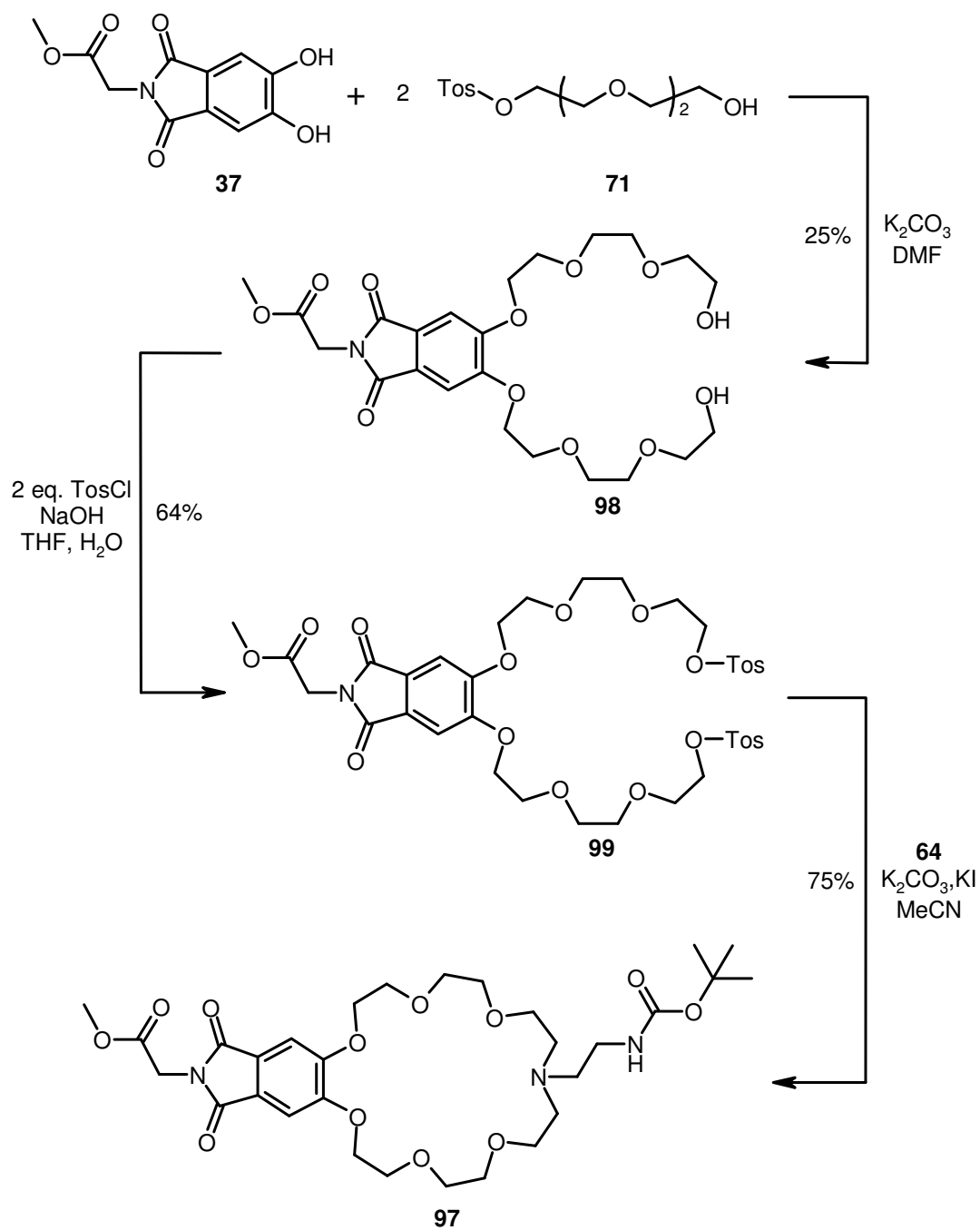


Abbildung 48: Syntheseweg zur KEAS 97

2.2. Bindungsstudien der Kronenetheraminosäure-Bausteine

Aus vielen publizierten Arbeiten⁴⁵ ist bekannt, dass Kronenether im Bereich der Größe von 18-Krone-6 Kalium-Kationen am besten binden. Daher wird bei jedem Kronenetheraminosäure-Baustein zunächst die K^+ Bindungskonstante bestimmt. Dies dient der Abschätzung der zu erwartenden Ammonium-Ion Bindungsstärke sowie als Vergleichswert, der eine Aussage über unerwartet gute oder schlechte Ammonium-Ion Bindungskonstanten im Vergleich zu der K^+ Bindung zulässt. Auch ist die Bindung von K^+ im Gegensatz zu Ammonium-Ionen nicht pH-abhängig.⁴

Die Bindungseigenschaften der Kronenether werden mittels Fluoreszenztitration bestimmt. Bei manchen Rezeptoren ergibt sich keine auswertbare Änderung des Fluoreszenzsignals; in diesen Fällen wird die Komplexierung durch UV-Titration verfolgt. Als Lösungsmittel dient Methanol, soweit nicht anders angegeben.

In den folgenden Unterkapiteln werden die einzelnen Bausteinklassen einzeln aufgeführt und die Bindungseigenschaften diskutiert. Ein Kapitel geht auf die generellen Fluoreszenzeigenschaften und die bei Bindung auftretenden Änderungen ein, da diese von hoher Bedeutung für die Eignung als Sensoren sind. In der Schlussfolgerung wird schließlich anhand der gewonnenen Ergebnisse der beste Baustein identifiziert.

⁴ Bei Verwendung von Thiocyanat als Gegenion zum K^+ .

2.2.1. Vergleich der photophysikalischen Eigenschaften der Bausteine

Alle in diesem Kapitel aufgeführten Messungen werden in Methanol durchgeführt, soweit nicht anders vermerkt.

Absorption

Die getesteten Verbindungen lassen sich sowohl strukturell als auch bezüglich ihrer langwelligsten Absorptionsbande in zwei Klassen einteilen. Die Phthalsäurediesterverbindungen **65** und **96** besitzen eine λ_{max} -Bande bei 268 nm.

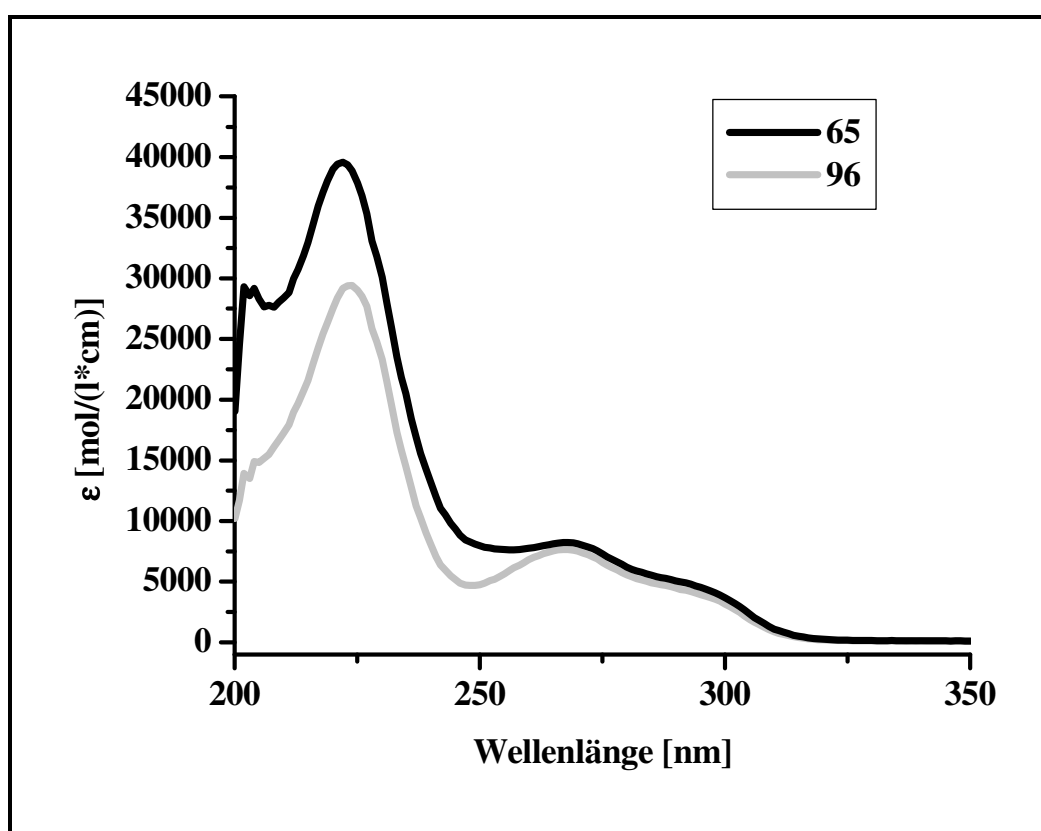


Abbildung 49: UV-Spektren von **65** und **96**

Bei den Phthalimiden **67**, **89**, **87**, **42**, **88**, und **97** ist die langwelligste Absorption im Vergleich zu den Diestern bathochrom zu ca. 345 nm verschoben. Dies kann durch den geringeren +M-Effekt des Imid-Stickstoffes im Vergleich mit den zwei +M-Effekten der Ester-Sauerstoffe begründet werden. Dadurch werden die Carbonylfunktionen elektronenärmer und somit energetisch abgesenkt. Das dort angesiedelte LUMO des $n-\pi^*$ Überganges wird damit

ebenfalls zu geringeren Energien verschoben. Die Anregung kann dadurch bei geringeren Energien stattfinden.

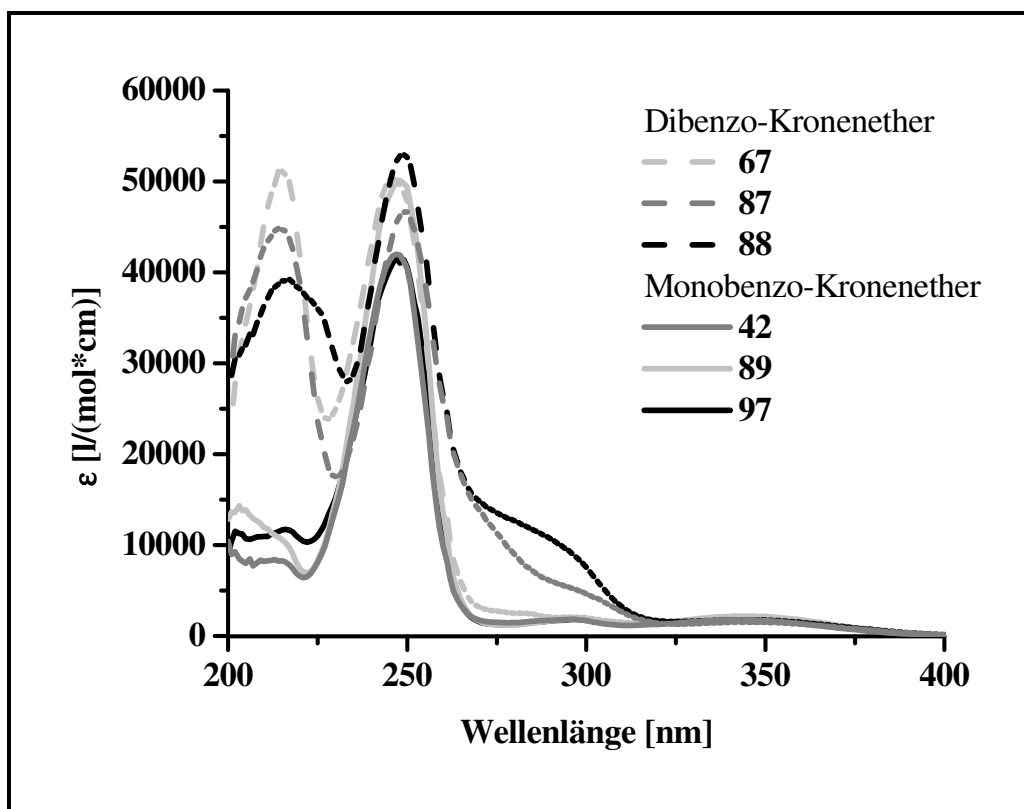


Abbildung 50: UV-Spektren der Phthalimid-Kronenether

Die größeren Unterschiede bei Wellenlängen < 320 nm sind durch die unterschiedlichen funktionellen Gruppen neben der Phthalimideinheit zu erklären.

Emission

Wie auch bei der Absorption machen sich die unterschiedlichen elektronischen Eigenschaften der Phthalimid- bzw. Phthalsäurediestergruppen im Emissionsspektrum bemerkbar. So haben **65** und **96** ihr Emissionsmaximum bei ca. 385 nm, die Phthalimid-Kronenether hingegen bei ca. 488 nm.

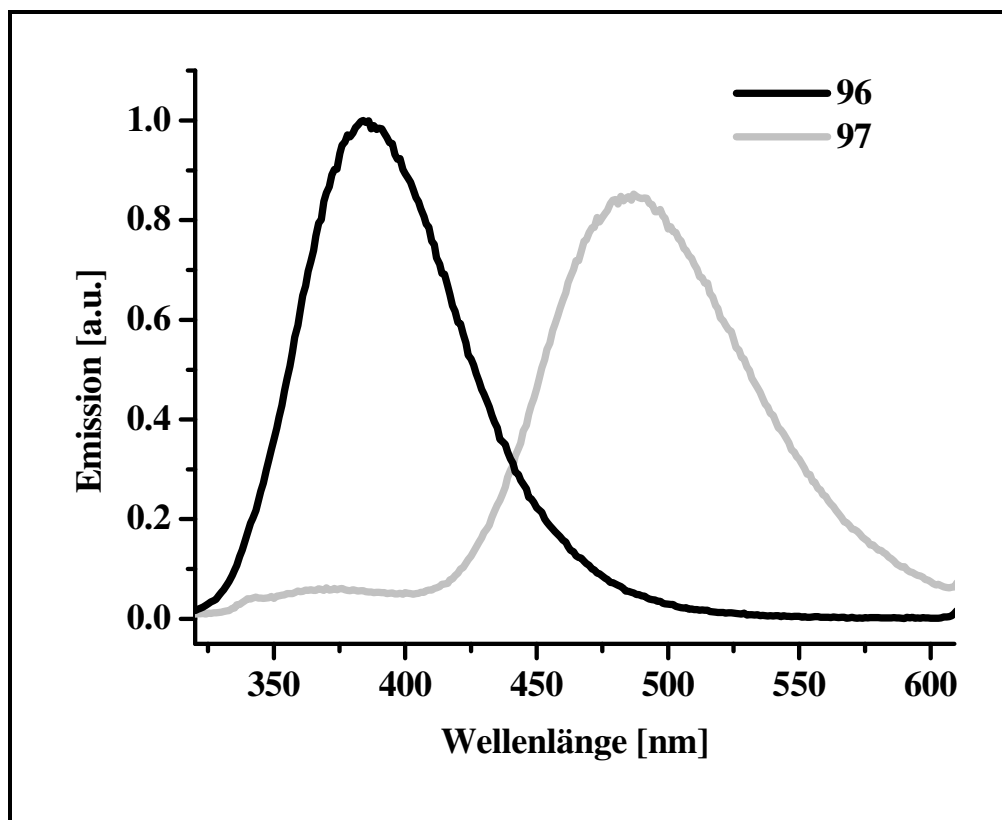


Abbildung 51: Emissionsspektren von **96** und **97**

Abbildung 51 zeigt exemplarisch anhand der strukturell sehr ähnlichen KEAS **96** und **97** das unterschiedliche Fluoreszenzverhalten der Phthalsäurediester- und Phthalimidkronenether.

Die Quantenausbeuten der Kronenether spiegeln meist strukturelle Ähnlichkeiten im Aufbau wieder.

	Kronenether	Φ^5	λ_{\max}
Monofunktionalisierte	42	0.53	485
Kronenether	46	0.09 ⁶	479
Triazin-KEAS	65	0.32	387
	67	0.01	488
Dibenzo-KEAS	87	0.05	495
	88	0.01	488
	89	0.49	488
Monobenzo-KEAS	96	0.09	384
	97	0.08	487

Lösungsmittel: Methanol

Tabelle 7: Quantenausbeuten der untersuchten Kronenether

Auffällig ist die sehr geringe Quantenausbeute bei allen Dibenzo-Kronenethern (**46**, **67**, **87**, **88**). Hier scheint es zu einer Emissionslöschung durch π - π Interaktionen zu kommen. Denkbar wäre ein π - π stacking ähnlich dem bei der Triazin-KEAS **55** anhand der Röntgenstruktur (siehe Abbildung 54) gezeigten Konformation. Die Quantenausbeute von **65** ist jedoch sehr viel höher, obwohl hier auch π - π stacking zu erwarten wäre. Genauere Aussagen lassen sich daher zu diesem spezifischen Löschmechanismus nicht treffen. Ein nicht einheitliches Verhalten zeigen die Monobenzo-KEAS. Verbindung **89** hat ebenso wie **96** und **97** eine Aminofunktion, jedoch ist diese *Boc*-geschützt und somit kann das freie

⁵ Die Quantenausbeuten werden mit Chinin-disulfat in 1 N H₂SO₄ als Referenzsubstanz ($\Phi = 0.546$) durchgeführt.

⁶ Die Messung wird aufgrund der schlechten Löslichkeit von **46** in einer 1.6% Lösung von CHCl₃ in Methanol durchgeführt.

Elektronenpaar nicht mehr löschend auf die Fluoreszenz wirken. Bei **96** und **97** ist eine Löschung durch Photoelektronentransfer möglich und die Quantenausbeute daher gering.

2.2.2. Monofunktionalisierte Kronenether

Diese Klasse der Kronenetherbausteine dient hauptsächlich der Einschätzung der mit Phthalimid-basierten Kronenethern erzielbaren Bindungskonstanten. Beide synthetisierten Kronenether werden mit KSCN und *n*-Butylammonium-Chlorid titriert.

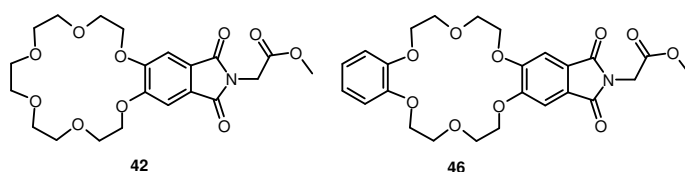


Abbildung 52: Monofunktionalisierte Kronenether **42** und **46**

Kronenether	Gast	K [M ⁻¹]	σ^7	Log (K)	I _{oo} /I ₀ ⁸
42	KSCN	270000	25 %	5.63	1.24
	<i>n</i> BuNH ₃ Cl	370	10 %	2.57	UV ⁹
46 ¹⁰	KSCN	43700	10 %	4.64	4.49
	<i>n</i> BuNH ₃ Cl	25	23 %	1.5	UV ⁸

Lösungsmittel: Methanol

Tabelle 8: Bindungseigenschaften monofunktionalisierter Kronenether

⁷ σ ist die relative Standardabweichung

⁸ I_{oo}/I₀ ist das Verhältnis der Fluoreszenzsignale (der Peakmaxima oder der Peakintegrale) des Komplexes zu dem des freien Kronenethers.

⁹ Titration ergibt keine auswertbare Änderung der Fluoreszenzintensität. Daher werden die Bindungskonstanten Bestimmung durch UV-Titration bestimmt.

¹⁰ Titriert wird aufgrund der geringen Löslichkeit von **46** in einer 1.6%igen Lösung von CHCl₃ in Methanol.

Wie zu erwarten ist, bindet der monobenzo-derivatisierte Kronenether **42** deutlich besser als das entsprechende dibenzo Derivat **46**. Dies ist zum einen mit der durch den -M-Effekt des Ringes reduzierte Elektronendichte von Phenolether-Sauerstoffen im Vergleich zu aliphatischen Ethern zu begründen. Auch ist die Flexibilität des Kronenethers eingeschränkt, was die optimale Anordnung der Sauerstoffatome zur Komplexierung des Gastes erschwert. Die Kalium-Kation Bindungskonstanten liegen in dem erwarteten Bereich von $K = 10^5 - 10^6 \text{ M}^{-1}$, die Ammoniumbindungsfähigkeit ist jedoch auffallend gering. Überraschend ist auch, dass sich die Bindung von K^+ in einer insbesondere bei **46** sehr deutlichen Steigerung der Fluoreszenzintensität zeigt, bei Titration mit Ammonium-Ionen hingegen keine Änderung auftritt und daher der Bindungsprozess mit UV-Titration verfolgt werden muss. Nimmt man **42** als Standard für optimales Bindungsverhalten der Phthalsäure- bzw. Phthalimid-basierten Kronenether so ist für die Komplexierung von *n*-Butylammonium-Chlorid eine maximale Bindungskonstante von ca. 400 M^{-1} in Methanol zu erwarten.

2.2.3. Triazin-Kronenetheraminosäuren

Aus dieser Klasse wird nur ein Vertreter (**65**) synthetisiert und getestet.

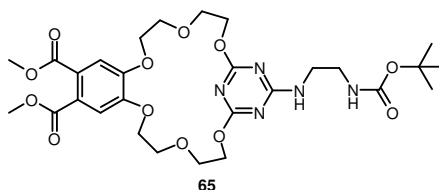


Abbildung 53: Triazin-KEAS **65**

Kronenether	Gast	K [M^{-1}]	σ	Log (K)	I_{∞}/I_0
65	KSCN	47	60 %	1.7	(0)

Lösungsmittel: Methanol

Tabelle 9: Bindungseigenschaften der Triazin-KEAS **65**

Aufgrund der sehr geringern K^+ -Bindungsfähigkeit wird von einer Titration mit *n*BuNH₃Cl abgesehen. Offensichtlich kann das in den Kronenether-Ring zeigende freie Elektronenpaar

des Triazin-Stickstoffes nicht zur Bindungsverstärkung beitragen. Vielmehr müssen hier im Vergleich zu **46** Effekte auftreten, welche die erheblich schwächere Komplexbildung trotz ähnlicher Größe erklären. Einen Hinweis hierzu liefert die Röntgenstrukturanalyse des zu **65** strukturell sehr ähnlichen **55**.

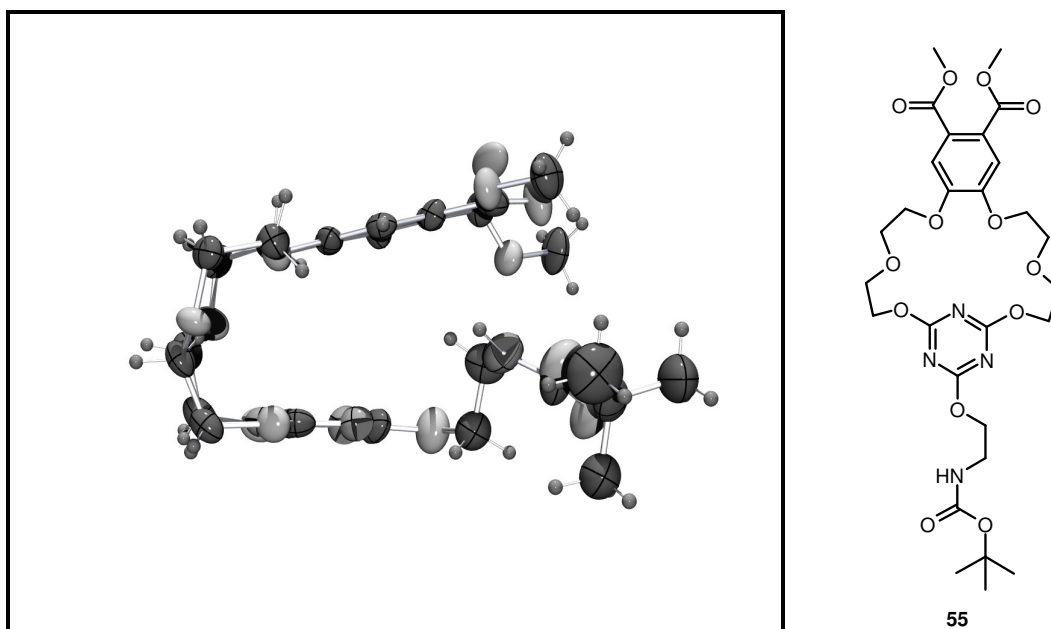


Abbildung 54: ORTEP-Darstellung der Kristallstruktur (links) und Strukturformel (rechts) von **55**

Abbildung 54 (links) zeigt oben die Phthalsäurediestergruppe, unten die Triazin-Untereinheit. Auffällig ist die nahezu parallele Anordnung der beiden aromatischen Ringe. Dies deutet auf eine π - π stacking Interaktion hin. Diese Wechselwirkung bildet sich zwischen der elektronenreichen 4,5-Dioxo-Untereinheit des Phthalimids und dem elektronenarmen Triazin aus. Bedingt durch diese Übereinanderlagerung der beiden Ringe, die auch in polaren Medien wahrscheinlich ist, wird eine zur Komplexbildung von Gästen ungünstige Vororientierung eingestellt. Dies ist eine mögliche Erklärung für die geringe Bindungsfähigkeit von **65**.

2.2.4. Dibenzo-KEAS

Die Dibenzo-KEAS zeichnen sich neben der Phthalsäuregruppe durch einen weiteren Benzolring im Kronenether aus. Die zu erwartenden Bindungskonstanten sollten im Bereich der Affinität von **46** liegen.

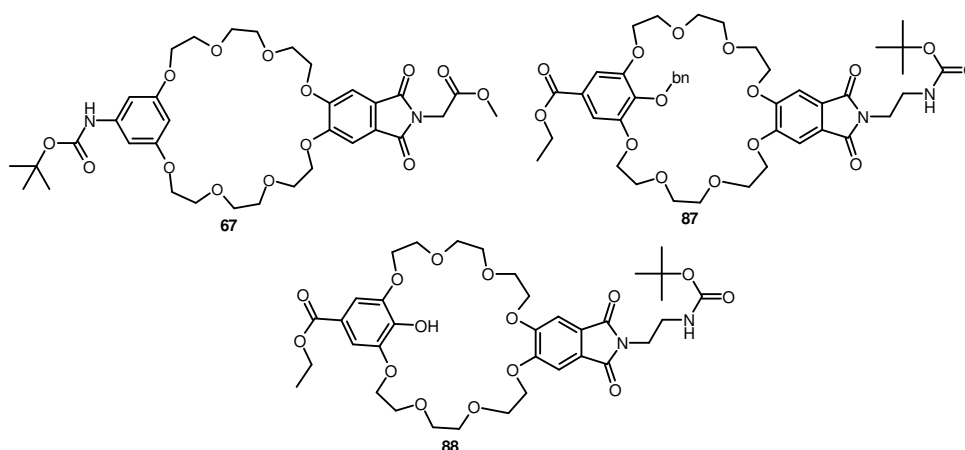


Abbildung 55: Dibenzo-KEAS **67**, **87** und **88**

Kronenether	Gast	K [M ⁻¹]	σ	Log (K)	I _∞ /I ₀
67	KSCN	72	71 %	1.86	0.88
	KSCN	933	18 %	2.97	1.20
87	<i>n</i> BuNH ₃ Cl	(0.2)	28 %	< 0	> 1.2
	BnNH ₃ Cl	(0.2)	20 %	< 0	> 1.2
88	KSCN	1160	10 %	3.07	3.59
	<i>n</i> BuNH ₃ Cl	2	28 %	0.33	(1.7)

Lösungsmittel: Methanol

Tabelle 10: Bindungseigenschaften der Dibenzo-KEAS

Die K⁺-Bindungsfähigkeit der synthetisierten Dibenzo-KEAS ist deutlich geringer als die der Vergleichsverbindung **46**. So zeigt der beste Vertreter dieser Klasse **88** nur ca. 1/50 der Bindungskonstante von **46**. Beachtenswert ist das Fluoreszenzverhalten bei Zugabe von K⁺. So erfahren sowohl **46** als auch **87** und **88** eine zum Teil deutliche Fluoreszenzverstärkung.

Bei **67** hingegen wird die Fluoreszenz durch Zugaben von K^+ leicht gelöscht. Betrachtet man **46** und **67**, so stellt man eine große strukturelle Ähnlichkeit fest. Daher lassen sich Aussagen über die auftretenden Lösch- oder Fluoreszenz-Verstärkungseffekte kaum treffen. Eine Vorhersage dieser Effekte für noch zu synthetisierende Kronenetherbausteine scheint ebenfalls nicht möglich zu sein.

Die Ammonium-Ion Bindungsfähigkeit der Dibenzo-KEAS ist generell zu gering, um von analytischem Nutzen zu sein. Auch eine Variation des Ammonium-Ions von $nBuNH_3Cl$ zu $BnNH_3Cl$ bringt keine Änderung im Komplexierungsverhalten.

88 zeigt im Vergleich zu **87** eine geringe Erhöhung der Bindungsaffinität, die im Anbetracht des Fehlerintervalls vernachlässigbar ist. Offensichtlich kann die Benzylschutzgruppe von **87**, die bei **88** abgespalten ist, nicht durch π - π Interaktionen bindungsverstärkend wirken, sondern bewirkt vielmehr eher eine Verschlechterung der Komplexierung.

Verbindung **88** nimmt eine Sonderstellung bei den Dibenzo-KEAS ein, da hier eine freie aromatische Hydroxyfunktion mit leicht sauerem Charakter vorliegt. Diese ist unter Umständen in der Lage, Amine zu protonieren und somit selbst das Ammonium-Gastmolekül zu generieren. Zudem würde die Wechselwirkung zwischen Ammonium-Kation und Phenolat-Anion bindungsverstärkend wirken. Aus diesem Grund wird **88** mit n -Butylamin titriert. Zur Kontrolle wird auch eine Titration mit Triethylamin durchgeführt.

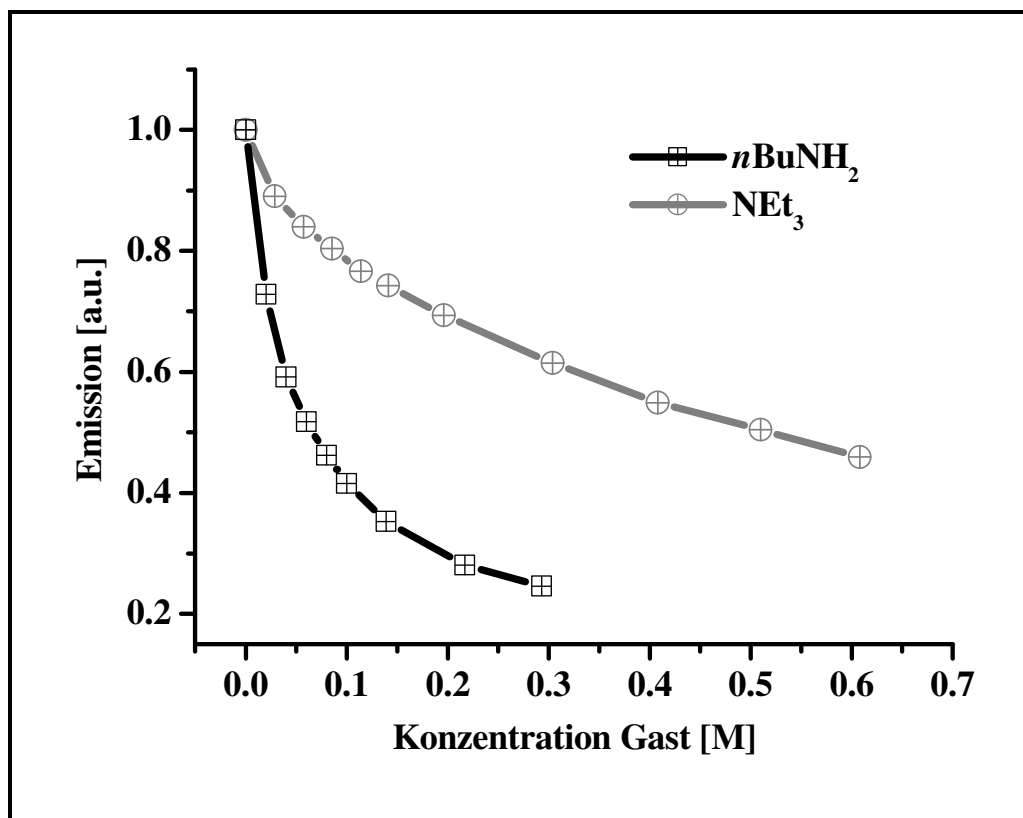


Abbildung 56: Fluoreszenztitration von **88** ($c = 3.95 \cdot 10^{-5} \text{ M}$) mit $n\text{BuNH}_2$ und NEt_3

Deutlich zeigt sich das unterschiedliche Verhalten der beiden Amine. Damit kann ausgeschlossen werden, dass es sich bei den Effekten bei der Zugabe von $n\text{BuNH}_2$ nur um die Auswirkungen von Säure-Base Reaktionen handelt. Es muss tatsächlich eine Erkennung des Amines bzw. des generierten Ammonium-Ions stattfinden. Auch die Bindungskonstanten spiegeln dies wieder.

Kronenether	Gast	K [M^{-1}]	σ	Log (K)	I_{∞}/I_0
88	$n\text{BuNH}_2$	21	4 %	1.3	0.13
	NEt_3	4	17 %	0.6	< 0.5

Lösungsmittel: Methanol

Tabelle 11: Bindungseigenschaften von **88** mit Aminen

Trotz der etwas höheren Basizität von Triethylamin im Vergleich zu n -Butylamin zeigt letzteres eine um Faktor 5 höhere Bindungskonstante. Auch der Vergleich mit $n\text{BuNH}_3\text{Cl}$ als

Gast zeigt, dass hier ein weiterer bindungsverstärkender Effekt auftreten muss, da sich die Komplexbildungskonstante von 2 auf 21 verzehnfacht.

Bei Verbindung **88** lässt sich der Bindungsprozess auch sehr viel besser als bei allen anderen getesteten Kronenethern via UV-Spektroskopie verfolgen.

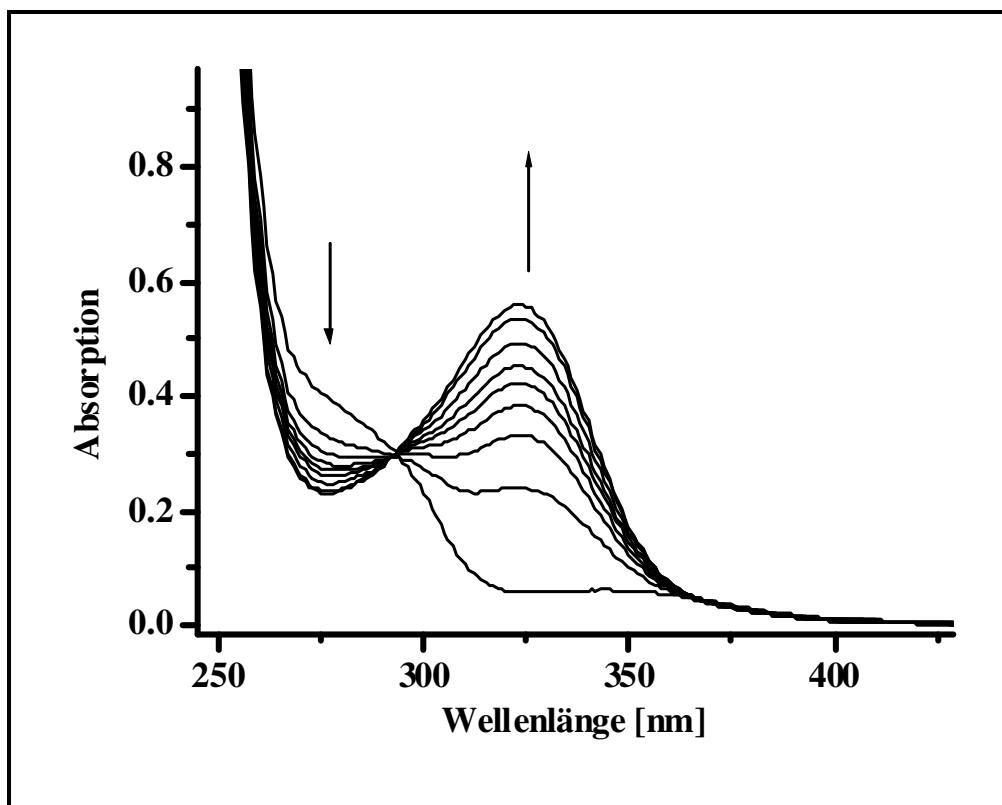


Abbildung 57: UV-Titration von **88** mit *n*BuNH₂

Deutlich ist der isobestische Punkt bei 293 nm erkennbar. Dieser ist ein Indiz für die Bildung eines definierten Komplexes. Die großen Änderungen im UV-Spektrum von **88** sind mit der Deprotonierung der freien Phenol-OH-Gruppe zum Phenolat-Ion zu begründen. Hierbei tritt durch die Anhebung des Energieniveaus der nicht bindenden Elektronen am Sauerstoff ein bathochromer Shift des $n \rightarrow \pi^*$ Übergangs auf.

Trotz der interessanten Eigenschaften von **88** sind die Bindungskonstanten der Dibenzo-KEAS für Amine oder Ammoniumverbindungen generell sehr gering. Diese Verbindungsklasse eignet sich daher wenig als Rezeptor für Ammonium-Ionen.

2.2.5. Monobenzo-KEAS

Die Monobenzo-KEAS sind strukturell am meisten mit **42** verwandt. Jedoch ist aus der Literatur¹ bekannt, dass mit zunehmender Substitution am Kronenether-gerüst die Bindungsstärke im Regelfall abnimmt.

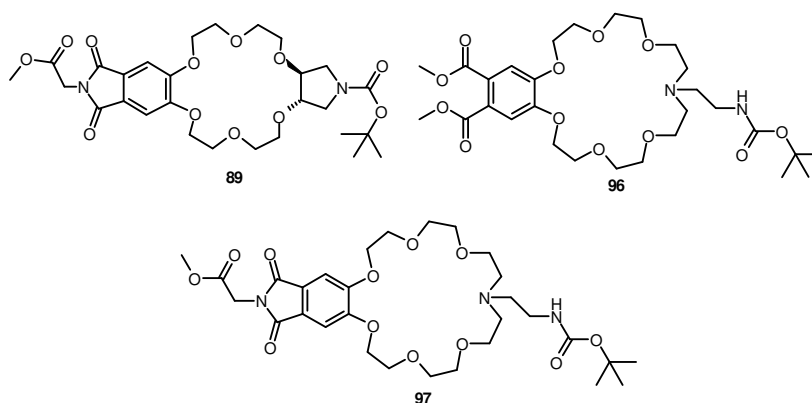


Abbildung 58: Monobenzo-KEAS **89**, **96** und **97**

Kronenether	Gast	K [M ⁻¹]	σ	Log (K)	I _{oo} /I ₀
89	KSCN	363	5 %	2.56	0.05
	<i>n</i> BuNH ₃ Cl	1	10 %	0.04	(0)
96	KSCN	4790	5 %	3.68	2.22
	<i>n</i> BuNH ₃ Cl	178	7 %	2.25	3.68
97	KSCN	36300	8 %	4.56	1.8
	<i>n</i> BuNH ₃ Cl	145	7 %	2.16	4.44

Lösungsmittel: Methanol

Tabelle 12: Bindungseigenschaften der Monobenzo-KEAS

Wie anhand der Daten ersichtlich ist, kann man die Monobenzo-KEAS in zwei Gruppen einteilen: **89** zeigt generell schlechte Bindungseigenschaften, wohingegen **96** und **97** verhältnismäßig gut binden.

Kronenether **89** bindet K^+ sehr viel schlechter als **46**. Dies ist insofern verwunderlich, da es sich hierbei um ein Monobenzo-18-Krone-6 Derivat handelt, die im allgemeinen sehr gut binden. Der Grund für die schlechten Komplexeigenschaften dürfte, wie schon in Kapitel 2.1.5 beschrieben, die aus der Röntgenstruktur (siehe Abbildung 46 links) ersichtliche ungünstige Orientierung der Sauerstoffe am Pyrrolidinring sein. Zudem weisen die *syn* zu den Sauerstoffen stehenden Wasserstoffatome in den Ring, was zu sterischer Abstoßung führt.

Die Verbindungen **96** und **97**, die sich nur anhand ihrer Funktionalisierung an den Säuregruppen der Phthalsäure unterscheiden, zeigen moderate (**96**) bzw. gute (**97**) K^+ -Bindungsfähigkeit. Eine Begründung für das deutlich unterschiedliche Komplexierungsverhalten zwischen dem Diester (**96**) und dem Imid (**97**) kann nicht gefunden werden.

Vergleicht man jedoch die Bindung von $nBuNH_3Cl$ durch die beiden KEAS, so stellt man annähernd gleiche K -Werte fest. Überraschenderweise ist die Komplexierung von Ammonium-Ionen deutlich stärker als erwartet. Sie bewegt sich sogar mit $K \approx 150\text{ M}^{-1}$ in der Größenordnung des von **42** ($K = 370\text{ M}^{-1}$) erzielten Wertes. Ebenfalls unerwartet ist die starke Fluoreszenz-Änderung bei Komplexierung von Ammonium-Ionen. Treten bei allen anderen getesteten Verbindung bei Zugabe von Ammonium im Vergleich zu K^+ ähnliche oder geringere Änderungen des Fluoreszenzsignals auf, so sind bei **96** und **97** bedeutend größere Zuwächse der Emission bei Ammonium-Ion-Zugabe zu beobachten. Dies ist von Vorteil, da sich dadurch das Signal-Rausch-Verhältnis verbessert und zudem Ammonium-Ionen (bei ausreichender Konzentration dieser) auch noch in Gegenwart von K^+ detektiert werden können. Der Mechanismus der Fluoreszenzsteigerung ist wahrscheinlich mit der Einbindung des freien Elektronenpaares des Ring-Stickstoffes bei Bindung eines Gastes zu begründen. Photoelektronentransfer ist dann weniger möglich und die Emission wird zu einem geringeren Teil gelöscht.

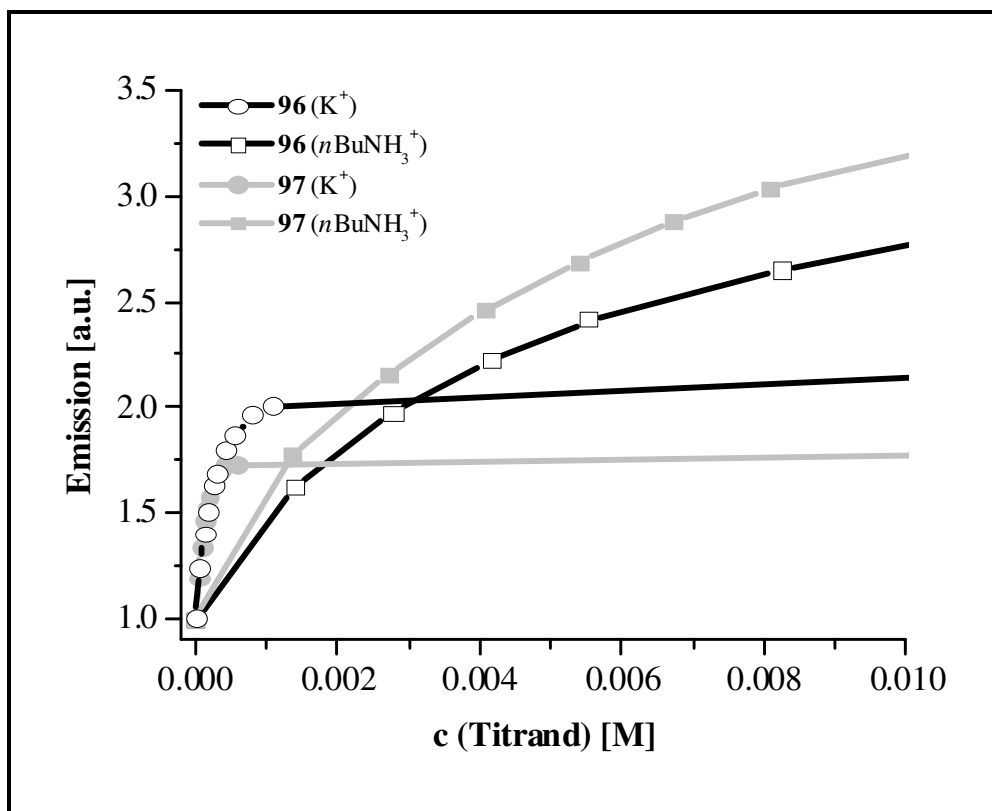


Abbildung 59: Titrationskurven¹¹ der Verbindungen **96** und **97** ($c = 5.5 \cdot 10^{-5}$ M)

2.2.6. Schlussfolgerung

Das Ziel der Arbeiten zur Darstellung der KEAS ist, einen Kronenether-basierten Rezeptor für Ammonium-Ionen zu finden. Dieser soll folgende Eigenschaften besitzen:

- möglichst hohe Bindungskonstante
- deutliche Fluoreszenzänderung bei Zugabe von Ammonium-Ionen, bevorzugt eine Steigerung der Emission
- Verknüpfbarkeit durch Aminosäurefunktionalität

Ein Vergleich der besten Kronenether aus allen getesteten Gruppen ermöglicht die Wahl des geeignetsten Rezeptors.

¹¹ Verlauf der Fluoreszenztitrationskurven mit K⁺ wurde ab einer Titrand-Konzentration von ca. 0.001 M durch Extrapolation ermittelt.

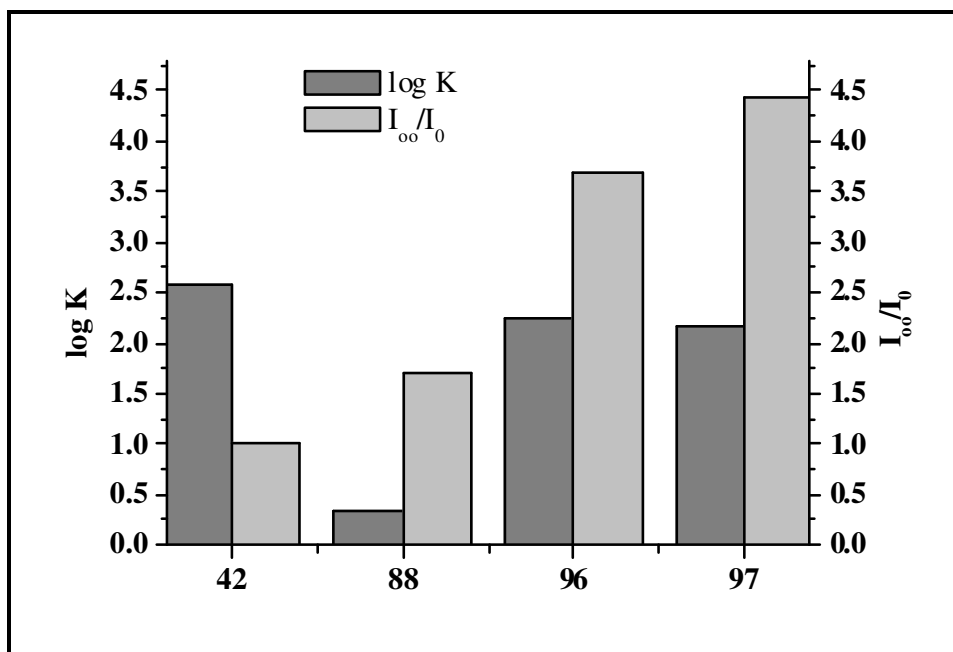


Abbildung 60: Vergleich der Ammonium-Ion Bindungseigenschaften der besten Kronenether

Aus Abbildung 60 wird deutlich, dass der als Testverbindung gedachte Kronenether **42** in der Tat die höchste Bindungskonstante aufweist. Da es sich hierbei jedoch nicht um eine KEAS handelt, ist der Einsatz von **42** nur als terminalen Rezeptor möglich. Betrachtet man die anderen drei aufgeführten KEAS, so ist deutlich erkennbar, dass **96** und **97** ungefähr gleich stark Ammonium-Ionen binden und dies annähernd so gut können wie **42**. Verbindung **88** ist mit einer sehr viel kleineren Bindungskonstante deutlich abgeschlagen. Auch bei der Emissionssteigerung bei Zugaben von Ammonium-Ionen sind **96** und **97** deutlich besser als **88**. Da **42** keine Änderung der Emission bei Titration mit Ammonium zeigt ($I_{oo}/I_0 = 1$), sind **96** und **97** in diesem Fall der Referenzsubstanz **42** deutlich überlegen.

Zusammenfassend ist zu sagen, dass mit **96** und **97** zwei Rezeptoren gefunden worden sind, die auf der einen Seite ein ähnlich gutes Bindungsvermögen wie die Referenzsubstanz **42** besitzen, darüber hinaus aber auch eine starke Emissionszunahme bei Zugabe von Ammonium-Ionen zeigen. Die KEAS **96** und **97** sind somit optimal geeignet, um als Ammonium-Sensoren in einem kovalent aufgebauten Rezeptorgerüst zu dienen.

3. Synthetische Aminosäure- und Peptidrezeptoren

Aufbauend auf die in Kapitel 2 gewonnenen Erkenntnisse werden verschiedene Aminosäure- bzw. Peptidrezeptoren entwickelt und zum Teil auch bereits getestet.

3.1. Aminosäurerezeptor 100

Harnstoffe finden in der supramolekularen Chemie breite Anwendung. Sie fungieren zum einen mit ihrer Carbonylfunktion als Wasserstoffbrücken-Akzeptoren, andererseits aber auch mit ihren Wasserstoffatomen an den Stickstoffatomen als Wasserstoffbrücken-Donatoren.²² Durch Harnstoffsubstitution von **96** zu **100** soll getestet werden, ob sich die Ammonium-Ion Bindung durch die zusätzlich mögliche Wechselwirkung mit der Carbonylgruppe eines Harnstoffes verbessern lässt. Daneben ist die Harnstoffgruppe auch ein geeigneter Rezeptor für Carboxylat. In Kombination mit dem Ammonium-Ion bindenden Kronenether könnte dies die Bindung von zwitterionischen Aminosäuren durch **100** erlauben.

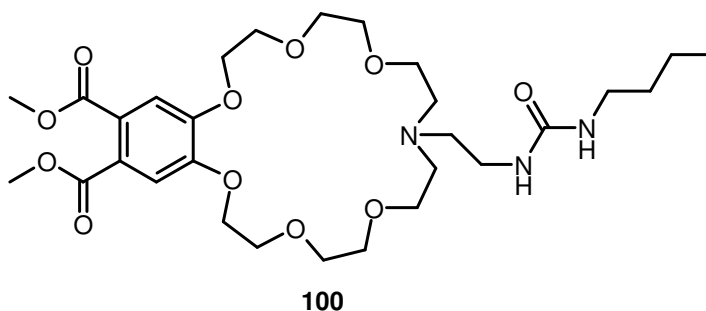


Abbildung 61: Aminosäurerezeptor **100**

3.1.1. Synthese

Zur Darstellung von **100** wird zunächst die *Boc*-Gruppe von **96** mit TFA abgespalten und das dabei entstehende Bis-TFA-Salz durch Extraktion mit gesättigter Natriumhydrogencarbonat-Lösung und Chloroform in die Form des freien Amins (**101**) überführt. Verbindung **101** wird anschließend mit *n*-Butyl-isocyanat zu **100** umgesetzt.

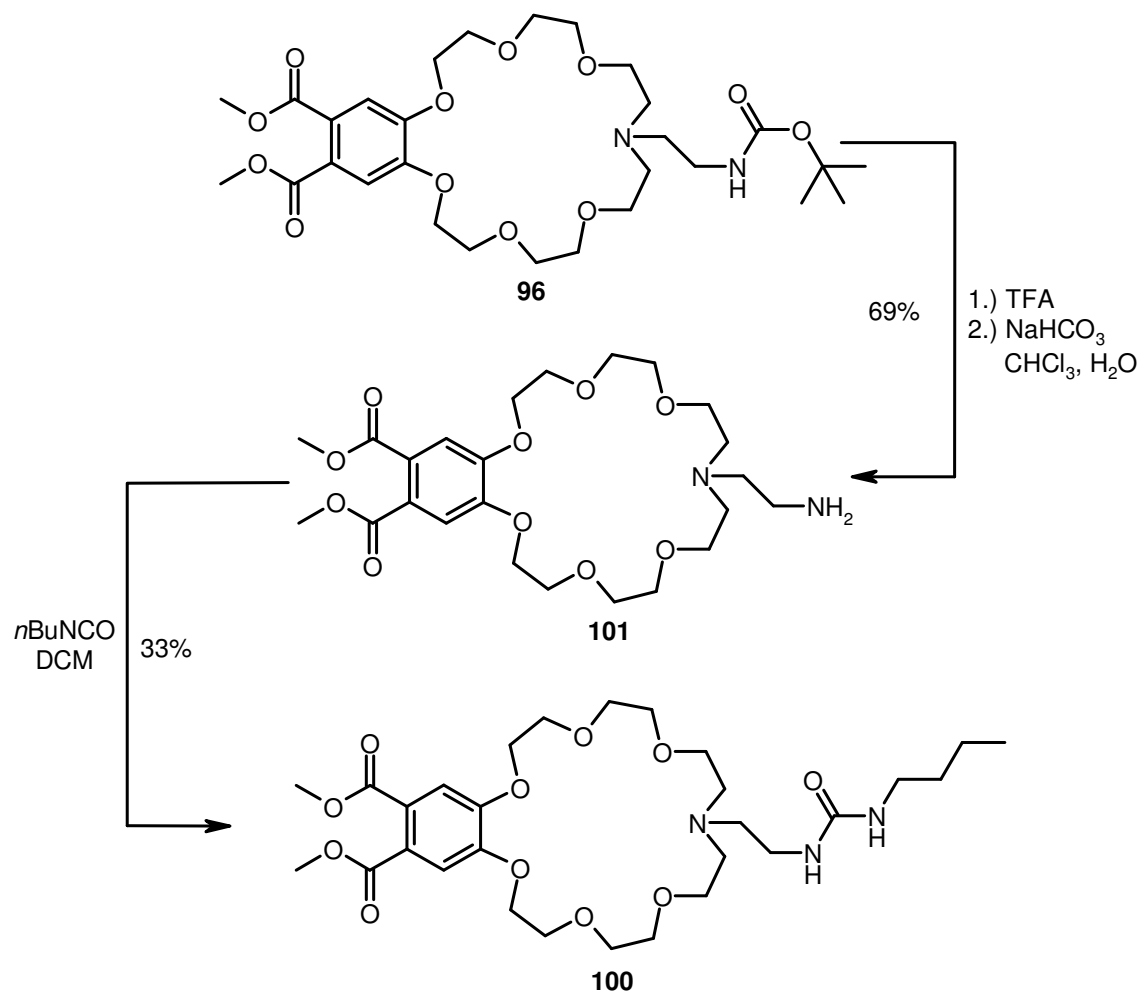


Abbildung 62: Darstellung des Rezeptors **100**

3.1.2. Bindungsstudien¹²

Wie auch bei den Kronenetherbausteinen sollen zunächst die Bindungseigenschaften von **100** bezüglich K⁺- und Ammonium-Ionen getestet werden.

Rezeptor	Gast	K [M ⁻¹]	σ	Log (K)	I _∞ /I ₀
100	KSCN	5040	11 %	3.70	1.5
	<i>n</i> BuNH ₃ Cl	284	3 %	2.45	3.9

Lösungsmittel: Methanol

Tabelle 13: Bindungseigenschaften des Rezeptors **100** für K⁺- und Ammonium-Ionen

Vergleicht man die K⁺ Bindungseigenschaften von **100** mit denen von **96** so stellt man eine in Anbetracht des Fehlerintervalls¹³ unspezifische Verstärkung der Bindung fest. Die Komplexierung von Ammonium-Ionen hingegen ist deutlich stärker. Somit lässt sich in der Tat durch Einführung eines weiteren Wasserstoffbrücken-Akzeptors eine Verbesserung der Ammonium-Ion-Bindung erzielen.

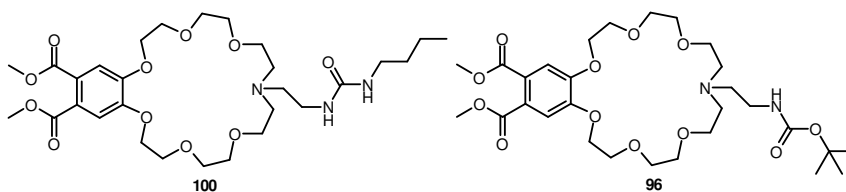


Abbildung 63: Rezeptor **100** und KEAS **96**

¹² Verbindung **100** zeigt aufgrund ihrer engen strukturellen Verwandtschaft zu **96** sehr ähnliche photophysikalische Eigenschaften, so dass auf diese hier nicht näher eingegangen wird.

Absorption [nm] (ε [l/(mol*cm)]) = 267 (7600), 224 (27900); Emission [nm] (Φ) = 386 (0.11)

¹³ Angenommen wird ein durchschnittliches Fehlerintervall von ± 10%.

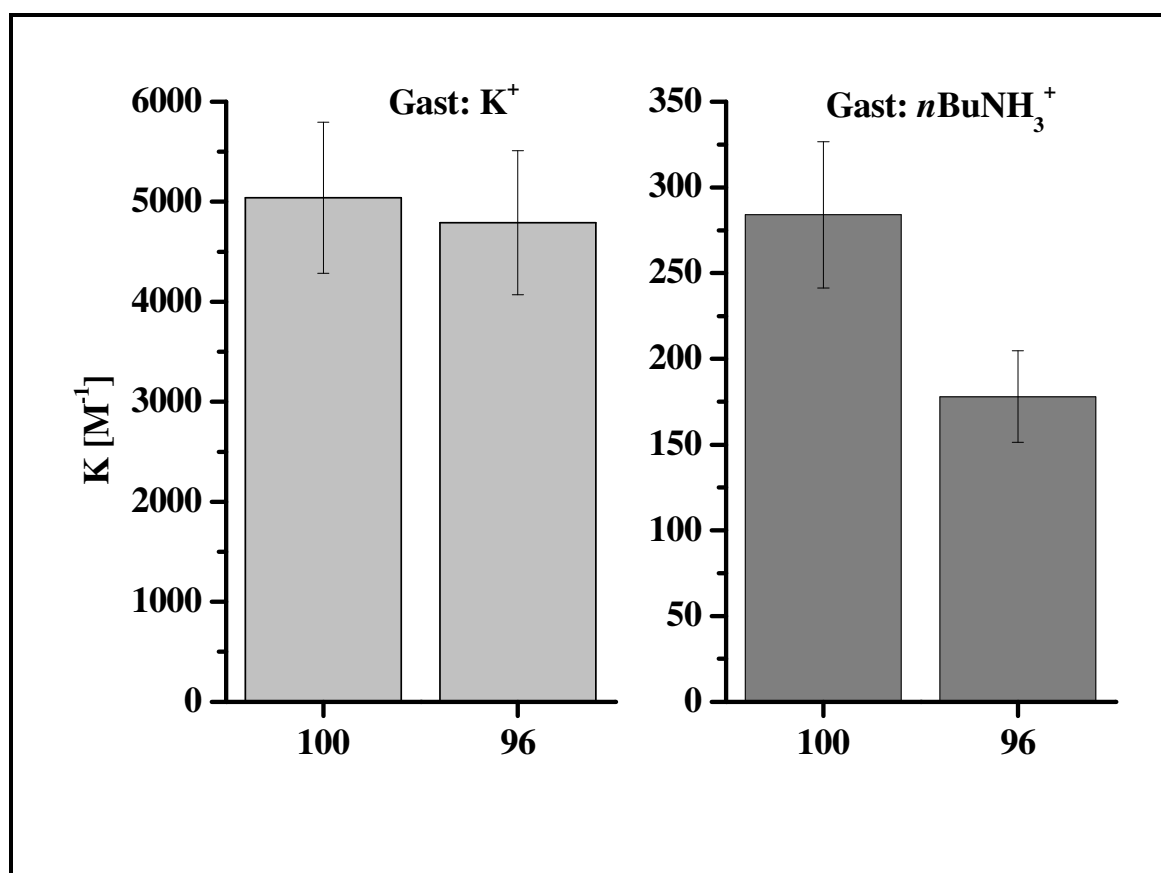


Abbildung 64: Vergleich der Bindungseigenschaften von **100** mit **96**

Weiterhin soll getestet werden, ob sich **100** als Rezeptor für zwitterionische Aminosäuren eignet. Da sich keine natürliche Aminosäure in ihrer zwitterionischen Form in ausreichender Menge in Methanol löst, müssen die Messungen mit Glycin als Gast in einer HEPES-gepufferten wässrigen Lösung durchgeführt werden. In Anbetracht des bezüglich Wasserstoffbrücken-Bildung hochkompetitiven Mediums ist die sehr geringe Bindungskonstante nicht verwunderlich. Daher lassen sich keine näheren Aussagen zu der Eignung von **100** als Rezeptor für zwitterionische Aminosäuren treffen.

Rezeptor	Gast	K [M ⁻¹]	σ	Log (K)	I _∞ /I ₀
100	Glycin	1	22 %	0.2	(0.9)

Lösungsmittel: HEPES Puffer in Wasser, 50 mM, pH 7.5

Abbildung 65: Glycin-Bindungseigenschaften von **100**

3.2. Peptidrezeptor mit Ammonium- und Histidin-Bindungsstelle

In Zusammenarbeit mit Michael Kruppa wird die Entwicklung eines Rezeptors begonnen, der neben einer **96** ähnlichen, Ammonium-Ionen bindenden Kronenethereinheit zusätzlich eine von Michael Kruppa entwickelte Histidin-bindende Gruppe enthält.

Der Histidin-selektive Teil baut auf ein IDA-Motiv mit darin koordiniertem Kupfer auf. Der Rezeptor soll selektiv für Peptidstrukturen mit *N*-terminalem Histidin und räumlich nahegelegtem Lysin sein.

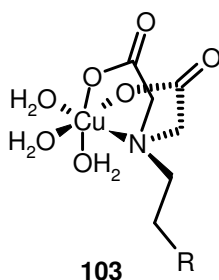


Abbildung 66: $[\text{Cu}(\text{IDA})(\text{H}_2\text{O})_3]$ - Motiv zur Bindung von *N*-terminalem Histidin

3.2.1. Synthese

Ausgangspunkt der Synthese ist das bereits bei der Darstellung von **96** verwendete **73**. Der Kronenether **104** kann daraus mit dem von Michael Kruppa bereitgestellten Edukt **103** in sehr guten Ausbeuten synthetisiert werden. Überraschenderweise ist die hydrogenolytische Spaltung der Benzylester zu **105** nicht möglich. Eine basische Esterverseifung scheidet aufgrund der im Molekül vorhandenen Methylester aus.

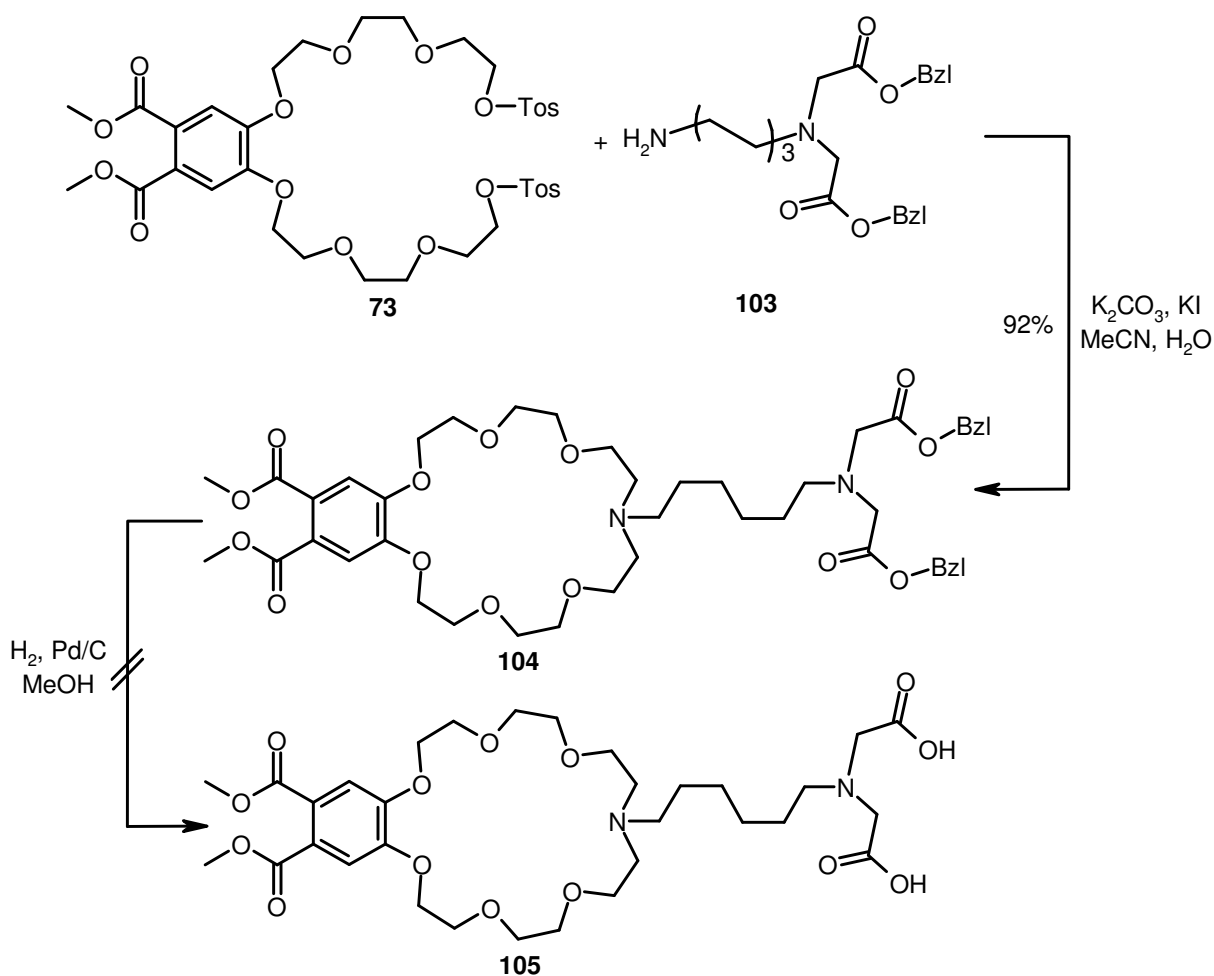


Abbildung 67: Darstellung von **104** mit anschließender versuchter Entschützung zu **105**

Als Alternative zu den Benzylschutzgruppen bieten sich *tert*-Butylester an, die im wasserfreien sauren Medium abgespalten werden können. Dies sind Bedingungen, die von den Methylestern toleriert werden. Um zu einem zu **104** äquivalenten Molekül mit *tert*-Butyl- statt Benzylestern zu kommen, wird zunächst **73** mit mono-*Boc*-geschütztem 1,6-Diaminohexan (**106**) umgesetzt. Die Ausbeuten von **107** sind im Vergleich zur Synthese von **104** geringer, was eventuell mit der thermischen Labilität der *Boc*-Gruppe begründet werden kann. Die Entschützung der Aminofunktion mit TFA liefert das Bis-TFA Salz **108**. Das IDA Motiv **109** erhält man schließlich durch Reaktion mit zwei Äquivalenten Brom-essigsäure-*tert*-butylester. In diesem Fall gelingt die Abspaltung der Ester durch Behandlung mit TFA und es wird das Bis-TFA-Salz **110** generiert. Die zur Fertigstellung des Rezeptors **111** nötige Komplexierung von Cu^{2+} wird mit basischem $CuCO_3 \cdot H_2O$ in Wasser versucht. Anhand der massenspektrometrischen Auswertung und der Farbänderung des Reaktionsgemisches kann auf zumindest teilweise Bildung von **111** geschlossen werden. Die nötige Kristallisation von

111 ist zum Zeitpunkt des Abschlusses dieser Arbeit noch nicht erreicht, so dass zum weiteren Fortgang auf die Arbeiten von Michael Kruppa verwiesen werden muss.

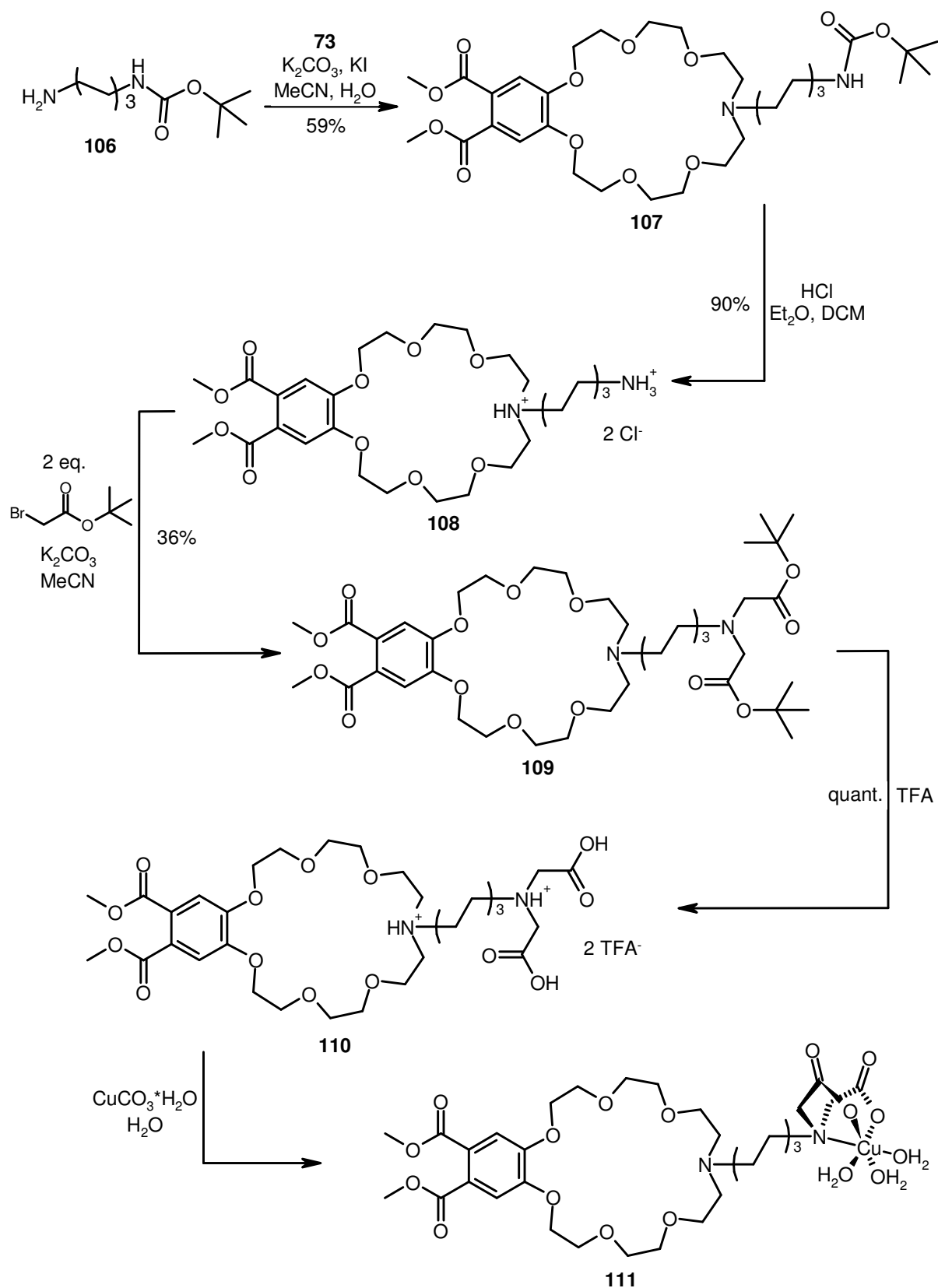


Abbildung 68: Darstellung des Peptidrezeptors **111**

3.3. Aminosäure- und Peptidrezeptor für *N*-terminales Lysin

Lysin ist die einzige natürliche Aminosäure mit zwei terminalen Aminogruppen. Somit sollte ein Rezeptor aus zwei Kronenethern mit geeignetem Spacer zwischen beiden in der Lage sein, Lysin bzw. Peptide mit *N*-terminalem ungeschützten Lysin selektiv zu erkennen. Aus diesem Grund wird der Biskronenether (**112**) aus **96** dargestellt und auf seine Eignung als Lysin-Rezeptor getestet.

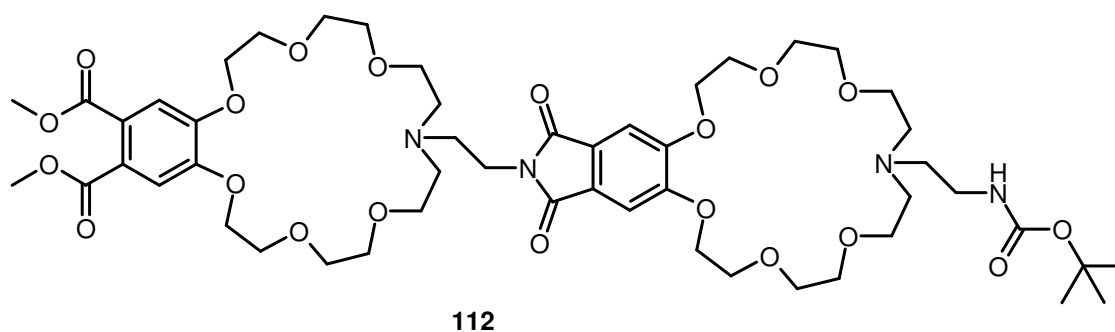


Abbildung 69: Lysinrezeptor **112**

3.3.1. Synthese

Rezeptor **112** wird in drei Schritten aus **96** erhalten. Um für die Peptidsynthese geeignete Ausgangsmaterialien zu erhalten, muss zum einen von **96** die *Boc*-Gruppe mit HCl-gesättigtem Ether in Dichlormethan abgespalten werden (**113**). Um kupplungsfähige Carboxylat-Funktionalitäten zu generieren, werden zudem die Methylester von **96** mit stöchiometrischen Mengen LiOH in THF/Wasser verseift (**114**). Die Kupplung von **113** und **114** gelingt durch Umsetzung mit DCC und HOBt in Chloroform in guten Ausbeuten von 70 %.

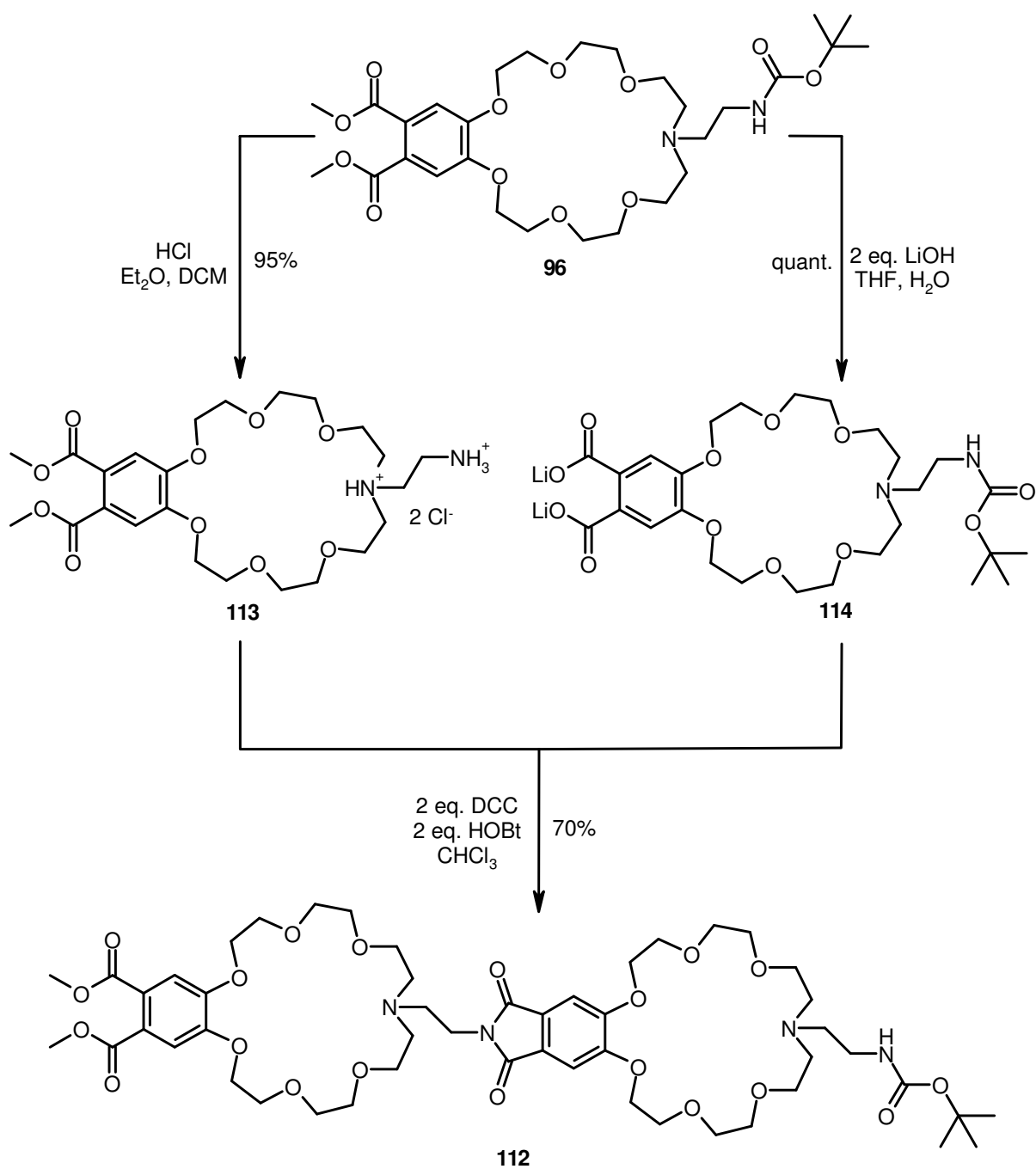


Abbildung 70: Synthese des Lysinrezeptors **112**

3.3.2. Bindungsstudien

Photophysikalische Eigenschaften

UV-Absorption

Rezeptor **112** setzt sich aus zwei elektronisch nicht verbundenen Kronenethereinheiten zusammen. Da das C-terminale Ende strukturell eher **96** und das N-terminale Ende mehr **97** gleicht, spiegelt das UV-Spektrum von **112** auch eine Kombination der UV-Absorptionen beider Phthalsäurederivate wieder. Der Umstand, dass keine zusätzlichen Peaks auftreten, kann als Indiz dafür gewertet werden, dass sich keine π – π Interaktionen der beiden aromatischen Einheiten ausbilden.

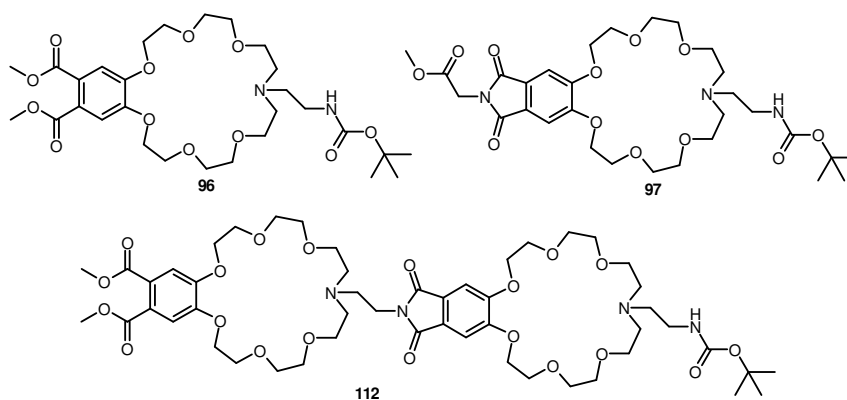


Abbildung 71: KEAS **96** und **97** und Rezeptor **112**

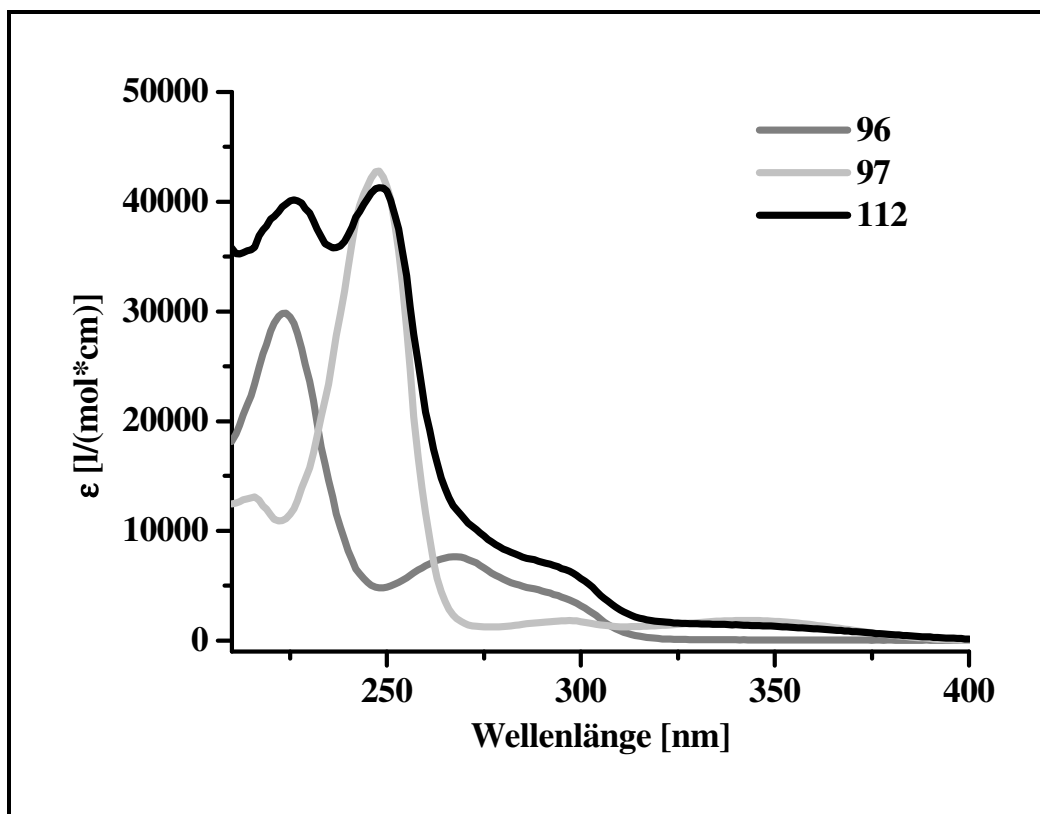


Abbildung 72: UV-Spektren von **96**, **97** und **112**

Emission

Auch das Emissionsverhalten von **112** spiegelt die beiden enthaltenen Untereinheiten wieder. So treten Peaks bei 389 nm (Phthalsäurediester) und 486 nm (Phthalimid) auf. Die langwelligere Phthalimid-Emission lässt sich gezielt anregen, da dieser Molekülteil im Gegensatz zu der Phthalsäurediestergruppe noch bei Wellenlängen > 320 nm Licht absorbiert.

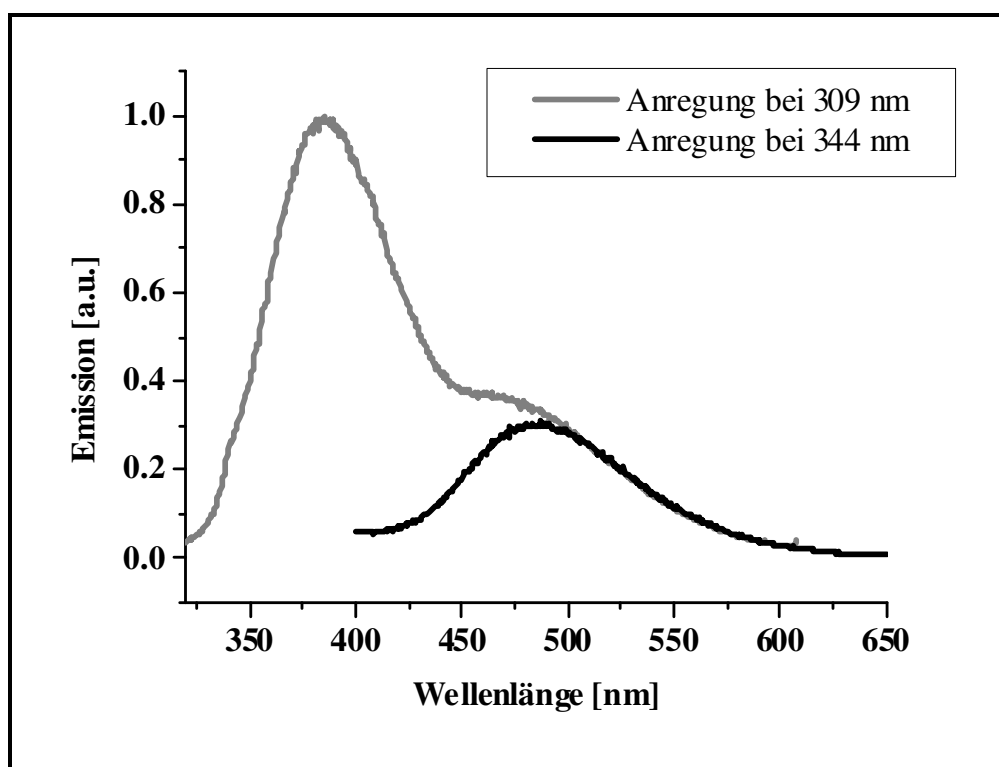


Abbildung 73: Emissionsspektren von **112** bei Anregung bei 309 nm und 344 nm

Die bei ca. 490 nm emittierende Phthalimidgruppe lässt sich somit völlig unabhängig von der zweiten fluoreszierenden Einheit untersuchen. Bei dem Phthalsäurediester-Molekülteil ist dies nur bedingt möglich. Jedoch kann bei Titrationsexperimenten der Emissionspeak von 320 nm bis ca. 390 nm integriert werden. In diesem Bereich ist die Lumineszenz des Phthalimidteils vernachlässigbar und man ist so in der Lage, auch die Phthalsäurediestergruppe separat zu beobachten. Somit lassen sich die Bindungskonstanten der beiden Kronenether von **112** einzeln bestimmen, da die Signaländerungen der beiden Molekülteile unabhängig voneinander betrachtet werden können.

Die Gesamtquantenausbeute¹⁴ für beide Molekülteile bei Anregung bei 309 nm ist sehr gering ($\Phi = 0.02$). Insbesondere die Emission des Phthalimidteils ist stark gelöscht, wie sich bei der Zugabe von Ammonium-Ion Gästen zeigt (siehe Abbildung 74).

¹⁴ Standard: Chinin-bisulfat in 1 N H₂SO₄.

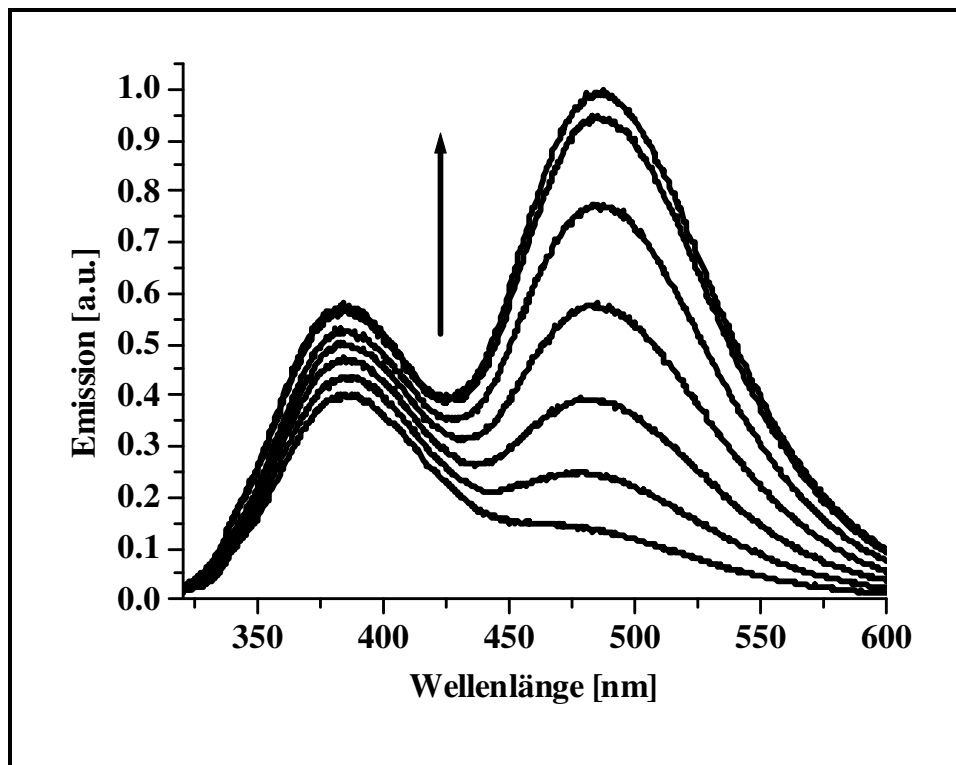


Abbildung 74: Fluoreszenzverhalten von **112** mit zunehmender Ammonium-Ionen Konzentration

K⁺- und Ammonium-Ion Bindung

Wie bei den Kronenetherbausteinen soll auch für **112** zunächst die Bindungsfähigkeit für K⁺- und Ammonium-Ionen getestet werden. Die erhaltenen Titrationskurven für die beiden separaten Kronenether von **112** entsprechen den zu erwartenden Graphen für 1:1 Komplexe. Somit agieren beide Kronenether unabhängig bei der Bindung der Gäste.

Gast	Emission (λ_{max})	K [M ⁻¹]	σ	Log (K)	I _∞ /I ₀
KSCN	389 nm	13000	29 %	4.1	1.1
	486 nm	40000	50 %	4.6	1.1
nBuNH₃Cl	389 nm	160	10 %	2.2	1.3
	486 nm	80	8 %	1.9	5

Lösungsmittel: Methanol

Tabelle 14: Bindungseigenschaften von **112** mit K⁺- und Ammonium-Ionen

Wie bereits im vorherigen Unterkapitel aufgeführt, ist die Änderung des Emissionspeaks bei 486 nm bei Zugabe von Ammonium-Ionen besonders deutlich. Mit nBuNH₃Cl ist hier eine Steigerung um das fünffache zu erreichen. Dies wirkt sich vorteilhaft auf das Signal-Rausch-Verhältnis und somit auf die Messgenauigkeit aus.

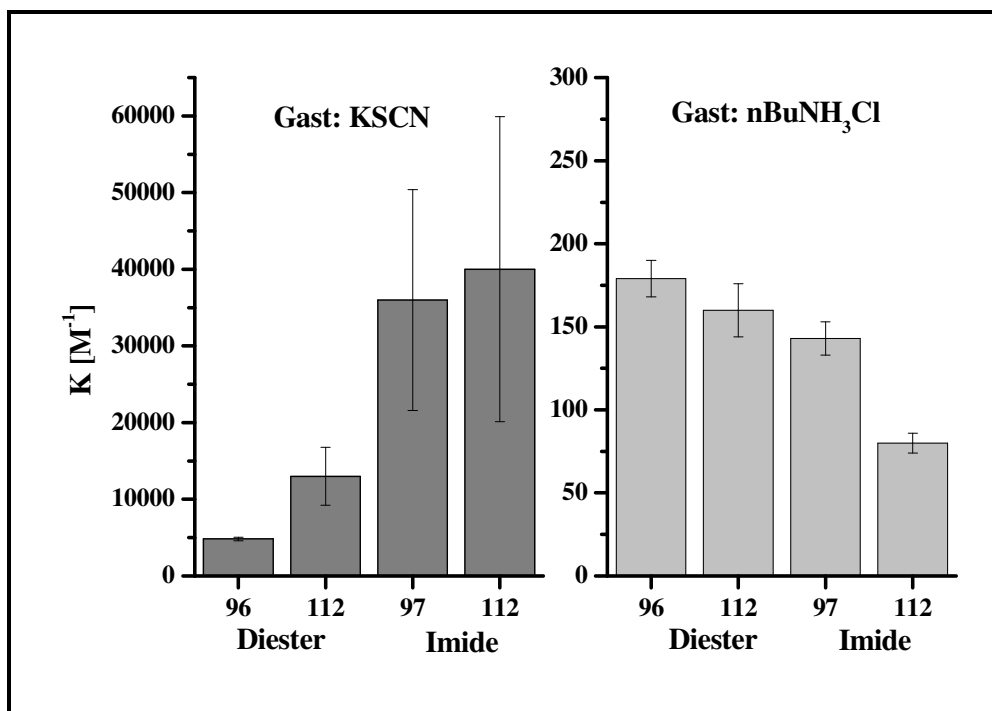


Abbildung 75: Vergleich der Bindungseigenschaften der Kronenether in **112** mit den vergleichbaren KEAS **96** und **97**

Der Vergleich der Kronenetherbausteine ähnlichen Aufbaus zeigt Änderungen der Bindungsaffinitäten. So binden die Untereinheiten von **112** K^+ -Ionen besser, Ammonium-Ionen hingegen schlechter als **96** bzw. **97**. Die Änderung der K^+ -Komplexierungsstärke ist bei den Phthalsäure-diester-Kronenethern stärker, wohingegen sie bei den Phthalimid-Kronenethern nahezu konstant bleibt. Bei der Bindung von *n*-Butylammonium-Chlorid hingegen zeigt sich das genau gegensätzliche Bild. Die Änderung der Bindungskonstante ist bei den Diestern vergleichsweise gering, wohingegen sie bei den Imiden stark abnimmt.

Generell ändern sich die Bindungskonstanten jedoch nicht übermäßig. Damit ist anzunehmen, dass eine Verknüpfung der KEAS-Bausteine keine große Änderung der Bindungseigenschaften bewirkt.

Lysin-methylester Bindung

Bindungseigenschaften

Zur Bestimmung der Lysin-Bindung durch **112** wird L-Lysinmethylester-dihydrochlorid (**115**) verwendet.

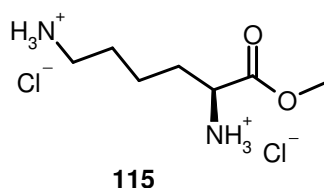


Abbildung 76: L-Lysinmethylester-dihydrochlorid (**115**)

Lösungsmittel	Emission (λ_{\max})	K [M^{-1}]	σ	Log (K)	I_{∞}/I_0
Methanol	389 nm	46000	16 %	4.7	1.5
	486 nm	22000	12 %	4.3	8
H₂O	389 nm	32000	6 %	4.5	1.4
1.6 % Methanol	486 nm	46000	12 %	4.7	1.7
H₂O, Hepes 50mM, pH 7.5, 1.6 % Methanol	389 nm	180	10 %	2.2	2.0
	486 nm	30	35 %	1.5	(1.4)

Abbildung 77: Bindungseigenschaften von **112** mit **115** in verschiedenen Lösungsmitteln

Vergleicht man die Bindungskonstanten von **115** und *n*-Butylammonium-Chlorid in Methanol, so wird das Aminosäure-dihydrochlorid um ca. Faktor 300 besser gebunden. Dies legt den Schluss nahe, dass es sich um einen 1:1 Komplex handelt, bei dem beide Ammonium-Ionen des Lysins durch je einen Kronenether von **112** gebunden werden. Durch derartiges kooperatives Verhalten kann die Bindungskonstante stark gesteigert werden.

Interessanterweise spiegeln die gemessenen Bindungskonstanten der Teilkronenether von **112** die Verhältnisse bei Komplexierung von *n*-Butylammonium-Chlorid wieder: Der Phtalsäure-Diester-Kronenether bindet besser als der Phthalimid-Kronenether. Die Kooperativität steigert somit die Bindungsstärke, verändert jedoch nicht die einzelnen Bindungseigenschaften!

Da die Erkennung von Aminosäuren und Peptiden besonders in Wasser von Interesse ist, werden auch die Bindungseigenschaften von **112** mit **115** in Wasser bzw. gepufferter wässriger Lösung untersucht. In ungepufferter Lösung ist die Bindung nahezu gleich stark, der Phthalimid-Teil scheint in Wasser besser zu binden als in Methanol. Diese Werte sind jedoch nur bedingt aussagekräftig, da **112** zwei freie Aminogruppen besitzt, deren Protonierungsgrad pH-abhängig ist. Mit Zugabe des sauren **115** ändert man jedoch den pH-Wert und es kann folglich nicht verlässlich zwischen Protonierung und Bindung von **115** unterschieden werden. Anders jedoch bei Titration in gepufferter Lösung. Für die Messungen wird HEPES-Puffer¹⁵ gewählt, da dieser im Gegensatz zu TRIS-Puffer keine primären Amin- bzw. Ammoniumgruppen besitzt und daher nicht an Kronenether binden kann. Der pH-Wert wird leicht basisch (pH 7.5) gewählt, um nicht durch vollständige Protonierung der Kronenether-Amine eine Bindung von Ammonium-Ionen durch elektrostatische Abstoßung der positiven Ladungen unmöglich zu machen. Tatsächlich ist auch in gepufferter Lösung noch eine Bindung zu verzeichnen, wenngleich sie sehr viel schwächer ist als in Methanol. In Anbetracht der erhöhten Ionenstärke (22 mM) durch den Puffer ist die Bindungskonstante des Phthalsäurediesters jedoch beachtlich. Das Bausteinsystem der KEAS zeigt, dass durch geeignete Kombination schwächer bindender Bausteine Rezeptoren generiert werden können, die sich auch in bezüglich Wasserstoffbrücken-Bindungen hoch kompetitiven Medien noch zur Erkennung von Gastmolekülen eignen.

Stöchiometrie der Bindung

Die im vorangegangenen Unterkapitel aufgeführten Bindungskonstanten werden durch Anpassung an das Modell eines 1:1 Komplexes ermittelt. Da jedoch prinzipiell auch andere Stöchiometrien aufgrund der Bivalenz sowohl von **112** als auch von **115** möglich sind, muss überprüft werden, ob die Annahme des 1:1 Modells gerechtfertigt ist.

¹⁵ Zur Einstellung des pH-Wertes wird $\text{Et}_4\text{N}^+\text{OH}^-$ verwendet, da die Kationen (z.B. Na^+ , K^+) anderer Basen an Kronenether binden.

Ein Hinweis auf das tatsächliche Vorliegen eines 1:1 Komplexes liefert die Anpassung an die Titrationsdaten.

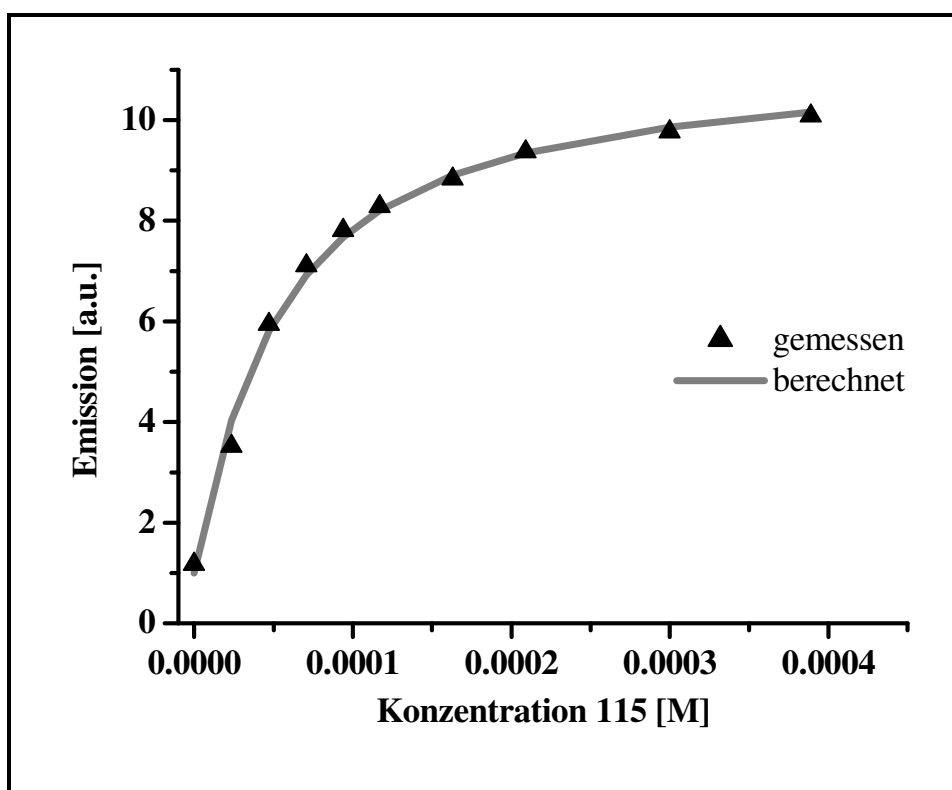


Abbildung 78: Gemessene und berechnete Fluoreszenztitrationskurven von **112** mit **115** in Methanol ($c = 1.63 \cdot 10^{-5} \text{ M}$)

Die gute Übereinstimmung zwischen den gemessenen und berechneten Daten zeigt, dass die Annahme eines 1:1 Komplexes angebracht ist.

Eine weitere, breit angewandte Methode⁴⁶ zur Ermittlung der Komplexstöchiometrie ist das Verfahren der kontinuierlichen Veränderung, auch „Job's Plot“ genannt. Hierbei wird das Verhältnis zwischen Gast und Rezeptor bei konstanter Gesamtkonzentration variiert. Trägt man die Änderung¹⁶ der Emission, multipliziert mit dem Molenbruch, gegen den Molenbruch von **112** auf, so spiegelt das Auftreten eines Maximums bzw. Minimums die Komplexzusammensetzung wider.

¹⁶ Da nur die Änderung der Emission $\Delta E_m(X)$ betrachtet wird, muss von der Emission noch die Emission des reinen **112** bei der gegebenen Konzentration abgezogen werden. $\Delta E_m(X) = E_m(X) - E_m(X=1) \cdot X$

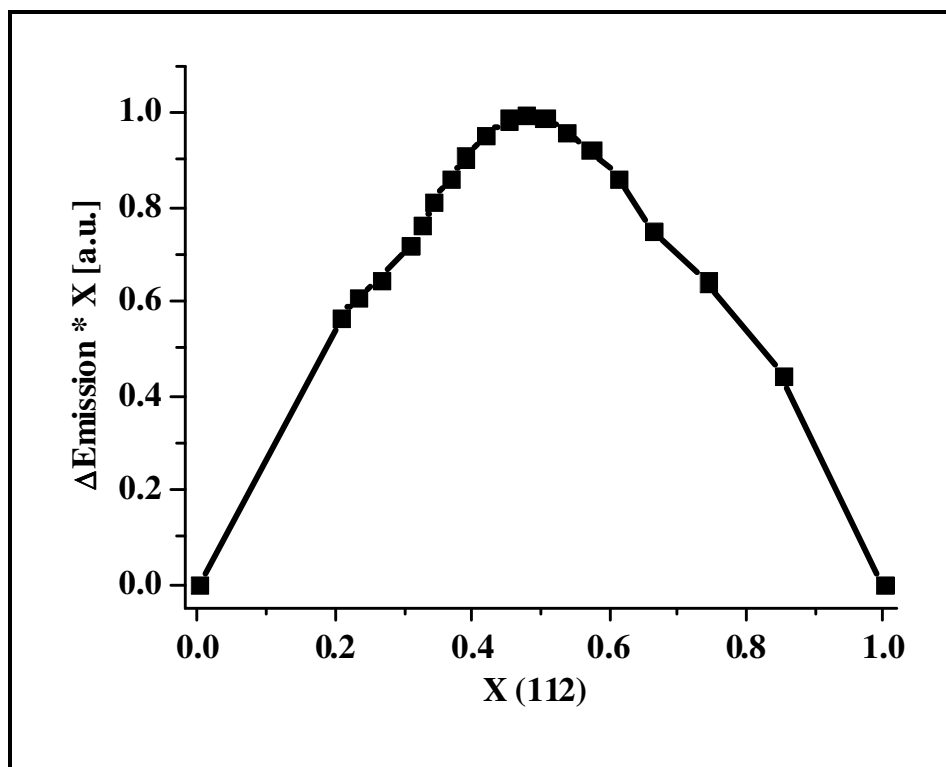


Abbildung 79: Job's Plot¹⁷ von **112** mit **115**

Die Auftragung nach Job zeigt ein deutliches Maximum bei $X = 0.5$. Damit kann sicher angenommen werden, dass es sich bei dem gebildeten Komplex um eine 1:1 Stöchiometrie¹⁸ handelt.

Einfluss der Protonierung auf das Emissionsverhalten

Wie bereits bei den KEAS-Bausteinen in Kapitel 2.2.5 diskutiert, kommt die Emissionszunahme bei Komplexierung wahrscheinlich durch die Unterbindung eines löschenden Photoelektronentransfers von der Aminogruppe des Kronenethers zum Fluorophor zustande. Da dies auch durch simple Protonierung des Amins möglich ist, wird **112** mit Perchlorsäure titriert. Diese Säure ist äußerst stark und daher unter den vorliegenden

¹⁷ Abweichungen vom parabelförmigen Verlauf bei $X = 0.3$ und $X = 0.66$ sind durch Kuvettenwechsel bedingt. Verschiedene Kuvetten geben bei gleichem Inhalt kein vom Intensitätsintegral identisches Spektrum. Daher müssen Sprungstellen näherungsweise durch lineare Anpassung ($Em^2(X) = a * Em^1(X)$) überbrückt werden.

¹⁸ Ein Maximum des Job's Plots bei 0.5 kann auch eine 2:2, 3:3,... Stöchiometrie widerspiegeln. Diese Verhältnisse können jedoch anhand des Titrationskurvenverlaufes ausgeschlossen werden.

Konzentrationsbedingungen vollständig dissoziiert. Somit lassen sich aus den Bindungskonstanten (K) auch die K_S -Werte berechnen.

$$K = \frac{[112H^+]}{[112] \cdot [H^+]} = \frac{1}{K_S}$$

$$\Rightarrow \log K = pK_S$$

Gleichung 1: Zusammenhang zwischen der Bindungskonstante K und der Säurestärkekonstante K_S

Emission (λ_{\max})	K [M^{-1}]	pK_S	I_{∞}/I_0
389 nm	$2.6 \cdot 10^5$	5.4	1.6
486 nm	$2.3 \cdot 10^5$	5.4	3.0

Lösungsmittel: Wasser (3.2 % Methanol)

Tabelle 15: Emissionseigenschaften von **112** bei Titration mit $HClO_4$

Die Titrationsen ergeben, dass beide Amine etwa gleiche Basenstärke besitzen. Der pK_S -Wert ist mit $pK_S = 5.4$ sehr viel geringer als die pK_S -Werte von L-Lysin ($pK_S^1 = 9.2$, $pK_S^2 = 10.8$)⁴⁷. Damit kann die Umprotonierung von **115** auf **112** vernachlässigt werden. Auch sollte es möglich sein, diesen Rezeptor im leicht sauren Milieu ($pH > 6$)¹⁹ einzusetzen.

¹⁹ Bei für Fluoreszenzmessungen üblichen Konzentrationen von ca. $1-5 \cdot 10^{-5} M$ **112** sind bei einem pH-Wert > 6 weniger als 10 % der Rezeptoren protoniert.

Untersuchung der sequenzspezifischen Bindung verschiedener Di- und Tripeptide

Zur selektiven Erkennung von Peptiden ist es notwendig, nicht nur funktionelle Gruppen einzeln zu binden, sondern auch dem Abstand dieser Rechnung zu tragen. Die Abstandsselektivität von **112** soll in diesem Kapitel untersucht werden. Hierzu werden drei Tripeptide mit den Sequenzen H-Lys-Gly-Gly-OMe (**116**), H-Gly-Lys-Gly-OMe (**117**) und H-Gly-Gly-Lys-OMe (**118**) synthetisiert (jeweils als Dihydrochlorid). Bei diesen drei Peptiden ist der Abstand zwischen den beiden Ammonium-Gruppen sukzessive um je eine Glycin-Einheit erweitert.

Zusätzlich wird noch das Dipeptid Ac-Lys-Lys-OMe * 2 HCl (**119**) dargestellt, um auch das Bindungsverhalten von **112** an zwei benachbarte Lysine zu testen.

Synthese der Peptide

H-Lys-Gly-Gly-OMe * 2 HCl (**116**)

Die Reaktion von *Boc*-Lys(*Boc*)-OH * DCHA (**120**) mit H-Gly-Gly-OMe * HCl (**121**) unter Standard Peptidkupplungsbedingungen (DCC, HOBT) liefert den doppelt *Boc*-geschützten Vorläufer (**122**) von **116** in 95 %iger Ausbeute. Das Tripeptid **116** erhält man durch Entschützung mit HCl gesättigtem Diethylether in Dichlormethan.

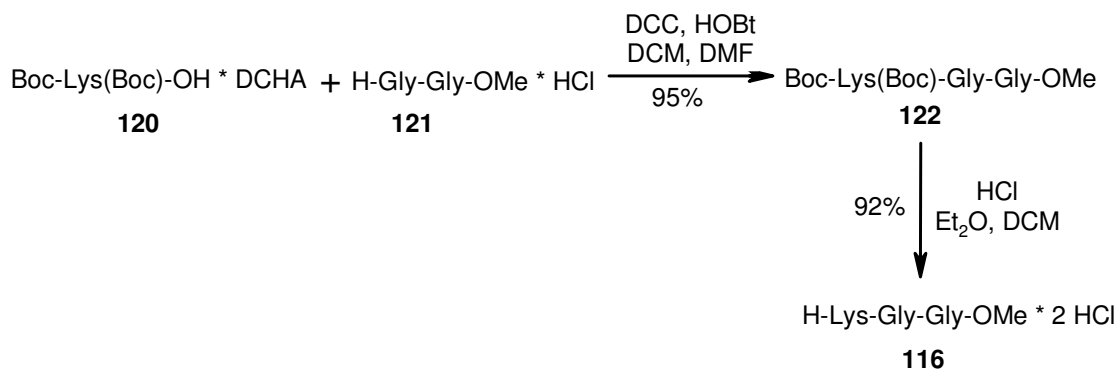


Abbildung 80: Synthese von **116**

H-Gly-Lys-Gly-OMe * 2 HCl (**117**)

Als Edukt dient Z-Lys(Boc)-OMe (**123**). Dieses wird am Aminosäure-Stickstoff durch Wasserstoff mit Palladium auf Aktivkohle als Katalysator entschützt (**124**). Peptidkupplung mit Boc-Glycin liefert das Dipeptid **125**. Stöchiometrische Mengen Lithiumhydroxid entschützen dieses am C-terminalen Ende durch Verseifung (**126**). Durch eine weitere Peptidkupplung erhält man schließlich das Tripeptid (**127**), das durch Behandlung mit HCl in Ether/ Dichlormethan in das Dihydrochlorid **117** überführt wird .

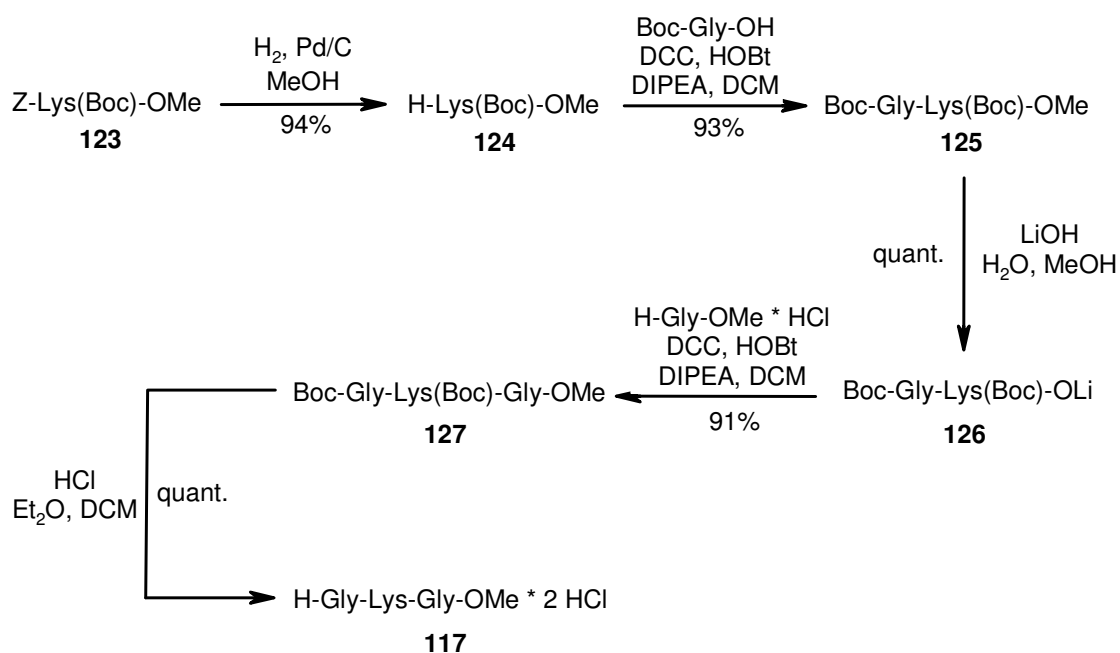


Abbildung 81: Synthese von **117**

H-Gly-Gly-Lys-OMe * 2 HCl (**118**)

Dieses Tripeptid wird zunächst in der di-*Boc*-geschützten Form (**129**) aus *Boc*-Gly-Gly-OH (**128**) und **124** dargestellt und dann mit HCl in Diethylether/ Dichlormethan entschützt.

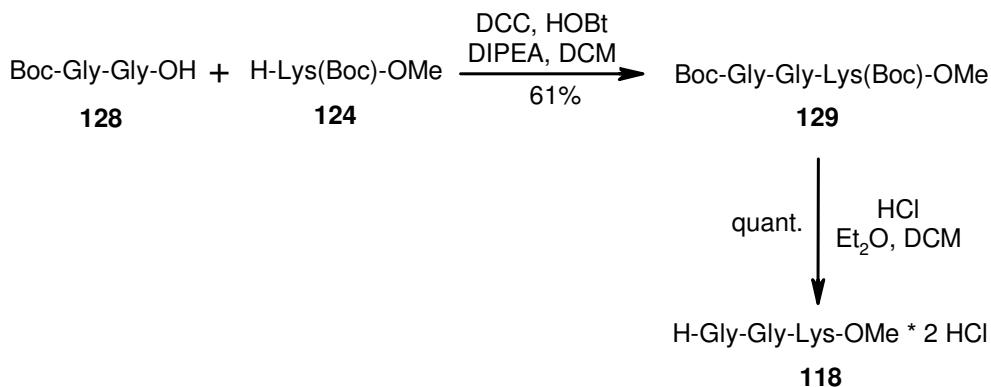


Abbildung 82: Synthese von **118**

Ac-Lys-Lys-OMe * 2 HCl (**119**)

Aus **124** und Z-Lys(*Boc*) (**130**) wird das Dipeptid **131** synthetisiert. Die im Molekül enthaltene Z-Schutzgruppe muss vor der Abspaltung der *Boc*-Gruppen gegen eine Acetylgruppe ausgetauscht werden, da die angewandten sauren Bedingungen auch eine teilweise Z-Entschützung bewirken. Daher wird **131** zunächst mit Wasserstoff und Pd/C behandelt und anschließend mit Acetanhydrid acetyliert (**132**). Die Abspaltung der *Boc*-Gruppen erfolgt wiederum mit HCl in Diethylether/ Dichlormethan.

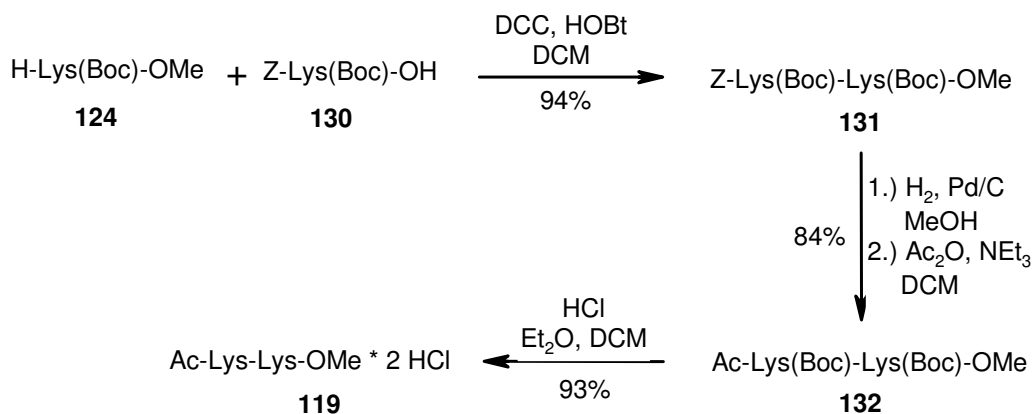


Abbildung 83: Synthese von **119**

Bindungsstudien

Bindung von **112** an Tripeptide

Die Bindungsexperimente werden in Methanol durchgeführt, da in diesem Lösungsmittel die Bindungskonstanten und auch die Fluoreszenzsteigerungsraten höher als in wässrigen Lösungen sind. Dies ermöglicht eine einfachere und mit geringerem Fehler behaftetere Auswertung der Titrationsen. Somit ist auch ein Vergleich der Bindung von **112** an die verschiedenen Peptide besser möglich.

Peptid	Emission (λ_{\max})	K [M ⁻¹]	σ	Log (K)	I _∞ /I ₀
H-Lys-Gly-Gly-OMe * 2 HCl	389 nm	4.5 * 10 ⁴	17 %	4.7	1.4
116	486 nm	2.6 * 10 ⁴	6 %	4.4	14
H-Gly-Lys-Gly-OMe * 2 HCl	389 nm	2.5 * 10 ⁴	6 %	4.4	1.4
117	486 nm	1.1 * 10 ⁴	6 %	4.0	10
H-Gly-Gly-Lys-OMe * 2 HCl	389 nm	1.2 * 10 ⁴	30 %	4.1	1.7
118	486 nm	7.8 * 10 ³	7 %	3.9	9

Lösungsmittel: Methanol

Tabelle 16: Bindungseigenschaften von **112** mit verschiedenen Tripeptiden

Zum Vergleich der Bindungskonstanten eignet sich insbesondere die Beobachtung der Phthalimid-Emission bei 486 nm. Die Bindung durch den Phthalimid-Kronenether ist zwar etwas schwächer als die des Phthalsäure-Diester-Kronenethers, zeigt aber um teilweise bis zu Faktor 10 stärkere Fluoreszenzsteigerung. Man kann hier nahezu von einem 0/1 (wenig Emission, keine Bindung/ starke Emission, Bindung) System sprechen. Aufgrund dieser starken Emissionsänderung fallen systematische Messfehler bei der Aufnahme der Fluoreszenzspektren geringer ins Gewicht. Die Standardabweichungen der Anpassungen liegen stets bei ca. 6 %. Zum Vergleich der Bindungsstärken an **112** soll eine konservative Abschätzung vorgenommen werden. Daher wird das Fehlerintervall auf 12 % verdoppelt.

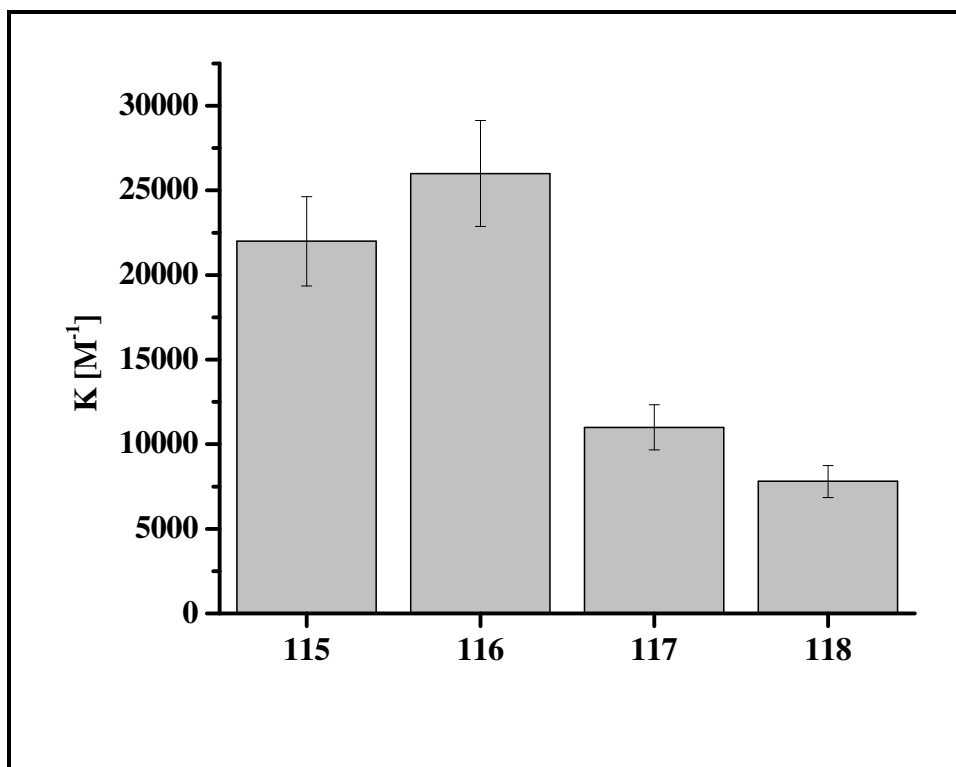


Abbildung 84: Vergleich der Bindungskonstanten von **112** an Lysinmethylester-Hydrochlorid (**115**) und verschiedener Tripeptide in Methanol

Das Tripeptid **116** mit *N*-terminalem Lysin bindet etwas besser an **112** als **115**. Im Rahmen der Messgenauigkeit ist dieser Unterschied jedoch nicht sehr signifikant. Deutlich hingegen ist die Abnahme der Bindungsstärke bei zunehmendem Abstand zwischen den beiden Ammoniumgruppen der Tripeptide. So ist ein deutlicher Trend vom *N*-terminalen Lysin (**116**) zu einem (**117**) bzw. zwei (**118**) Glycinen als Spacer zu verzeichnen.

Damit ist gezeigt, dass die geeignete kovalente Verknüpfung von Rezeptorbausteinen eine Sequenz-Selektivität bei der Erkennung von Peptiden erreichen kann.

Bindung von **112** an das Dipeptid Ac-Lys-Lys-OMe * 2 HCl (**119**)

Bei der Untersuchung der Bindung von **119** durch **112** zeigt sich eine deutlich andere Titrationskurve als bei den getesteten Tripeptiden. Dieser Kurvenverlauf ist nicht mehr mit einer 1:1 Bindungsstöchiometrie in Einklang zu bringen.

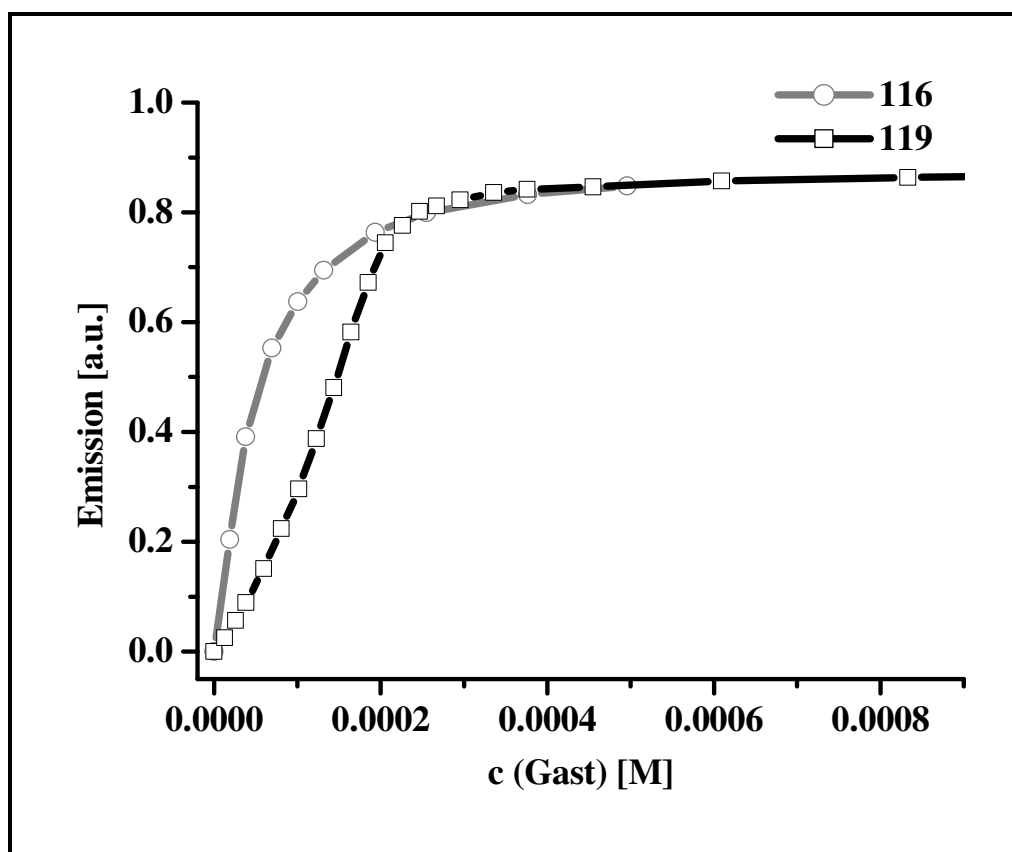


Abbildung 85: Vergleich der Titrationskurven von **112** ($c = 2.06 \cdot 10^{-5}$ M) mit **116** bzw. **119**

Die Auftragung nach Job zeigt ein Maximum bei ca. 0.6. Dies deutet auf eine Stöchiometrie zwischen 1:1 und 2:1 (**112:119**) hin.

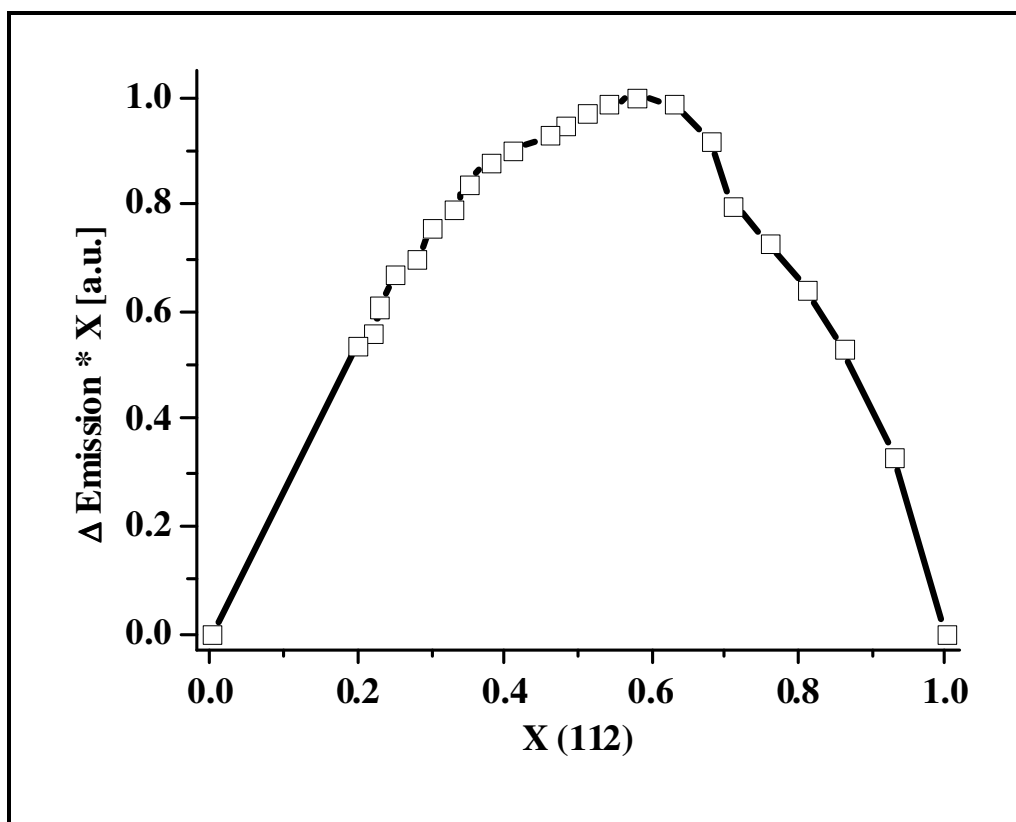


Abbildung 86: Job's Plot²⁰ 112 mit 119

Da die Zusammensetzung der sich bildenden Komplexe und deren Fluoreszenzquantenausbeute nicht bekannt sind, ist eine detaillierte Untersuchung des Vorganges nicht möglich. Offensichtlich ist die im Vergleich zu den Tripeptiden gesteigerte Flexibilität des Gastes entscheidend für das Auftreten verschiedener Komplex-zusammensetzungen. Damit zeigt sich auch, dass die Prämisse einer möglichst starren Rezeptorstruktur geeignet ist, die Anzahl der auftretenden Komplexe zu beschränken.

²⁰ Abweichungen vom parabelförmigen Verlauf bei X = 0.4 und X = 0.7 sind durch Kuvettenwechsel bedingt. Verschiedene Kuvetten geben bei gleichem Inhalt kein vom Intensitätsintegral identisches Spektrum. Daher müssen Sprungstellen näherungsweise durch lineare Anpassung ($Em^2(X) = a * Em^1(X)$) überbrückt werden.

3.4. Schlussfolgerung und Ausblick

Das Ziel dieser Arbeit besteht in der Bereitstellung und Testung von Ammoniumrezeptoren zum Einsatz in der Aminosäure- und Peptiderkennung. In diesem Kapitel wurde der beste gefundene KEAS-Baustein in mehrere Rezeptorstrukturen eingebunden. Die Ergebnisse zeigen, dass die Bindungsfähigkeit auch in einem größeren Molekül erhalten bleibt. Durch zusätzliche Seitengruppen bei der Bindung eines Ammonium-Ions bzw. kooperative Effekte bei Zusammenschluss zweier Erkennungseinheiten kann die Bindungsstärke gesteigert werden. Dabei kann auch auf Fluoreszenzänderungen als Indikator für die Bindung zurückgegriffen werden. Weiterhin bestätigen sich die zu Beginn der Arbeit getroffenen Annahmen, dass durch geeignete Verknüpfung von Bausteinen zum einen die Bindungsstärke aber auch die Selektivität zwischen verschiedenen ähnlichen Gastmolekülen steigt. Auch stellt sich heraus, dass mit zunehmender Flexibilität des Gastes – und damit auch im Umkehrschluss mit der des Rezeptors – die Präferenz zur Ausbildung eines definierten Komplexes abnimmt. Somit ist der Ansatz richtig, mit Einbau der Aminosäurefunktion in die C₂- Achse der KEAS eine Einschränkung der Flexibilität zu erreichen.

Da die Untersuchungen und Charakterisierung des mit Michael Kruppa in Zusammenarbeit entwickelten Rezeptors **111** zum Abschluss dieser Arbeit noch nicht fertiggestellt ist, muss auf die Arbeit von Michael Kruppa verwiesen werden.

Der Einbau der KEAS **96** oder davon abgeleiteter Strukturen in verschiedene Rezeptoren wird in der Zukunft zeigen, wie sehr sich dieses Konzept auch zur Erkennung komplexer und großer Biomoleküle eignet. Erste Schritte in diese Richtung werden die Darstellung eines Trimers von **96** und dessen Anwendung auf Peptide mit 3 Ammoniumgruppen sein. Auch Experimente mit verschiedenen Spacerlängen zwischen den einzelnen Kronenethereinheiten werden wichtige Erkenntnisse zu den Einflüssen von Flexibilität und Vororientierung liefern.

C Zusammenfassung

Die Erkennung von Peptiden und Enzymen spielt in der Natur eine herausragende Rolle, wie z.B. bei Signalübertragungsprozessen. Die dabei erreichten Selektivitäten und Bindungsstärken sind auf eine hohe Anzahl sich gegenseitig unterstützender Bindungsereignisse zurückzuführen. Um dieses Konzept multipler Bindungsstellen für ein Biomolekül in einem Rezeptor realisieren zu können, ist es nötig, verknüpfbare Bausteine für verschiedene zu erkennende funktionelle Gruppen zu entwickeln.

Diese Arbeit leistet hierzu einen Beitrag durch die Entwicklung von Ammonium-Ion bindenden Kronenetherbausteinen. Im ersten Kapitel werden Kronenether verschiedener Struktur synthetisiert und getestet. Allen gemeinsam ist dabei der Aminosäurecharakter und eine fluoreszierende Phthalimideinheit, die als Fluoreszenzsensor zur Anzeige von Bindungsprozessen dient. Als Referenz werden zusätzlich noch einfache Kronenether mit Carbonsäure- aber ohne Aminoende dargestellt, da anhand dieser Verbindungen die maximal möglichen Bindungskonstanten abgeschätzt werden können.

Durch Vergleich der Bindungseigenschaften für Kalium- und *n*-Butylammonium-Ionen werden Kronenether (**96**, **97**) mit einer Azabenz-21-Krone-7 Geometrie als am geeignetsten identifiziert. Diese zeichnen sich durch vergleichbare Bindungsstärken für Ammonium-Ionen ($K = 1.8 \cdot 10^2 \text{ M}^{-1}$ in Methanol) mit einem strukturell ähnlichen Benzo-18-Krone-6 Molekül aus. Der große Vorteil der entwickelten Kronenether-Aminosäuren ist die im Vergleich zur Referenzsubstanz beobachtete Fluoreszenzsteigerung um bis zu Faktor 4. Damit sind Bausteine für den Einsatz in größeren Rezeptoren gefunden.

Die Verwendung der im ersten Teil gefundenen Bausteine wird im zweiten Kapitel beschrieben. Zunächst wird durch einfache Umsetzung am Aminoende der Kronenetheraminosäure **96** mit *n*-Butylisocyanat ein Lariatether mit Harnstofffunktionalität dargestellt. Bedingt durch das als Wasserstoffbrücken-Akzeptor fungierende Sauerstoffatom des Harnstoffes kann eine Steigerung der Ammonium-Ion Bindung um ca. 50 % erreicht werden. Die Titration des Lariatethers mit ungeschützten zwitterionischen Aminosäuren soll eine Bindungsverstärkung durch Wasserstoffbrücken zwischen den H-Atomen des Harnstoffes und dem Carboxylat der Aminosäure zeigen, kann aufgrund der geringen Löslichkeit der Aminosäuren aber nur in gepufferter Lösung durchgeführt werden. Die

ermittelte Bindungskonstante ist ca. 1 M^{-1} und damit zu klein, um von analytischem Nutzen zu sein.

Ein weiterer Rezeptor entsteht durch Kombination des Kronenethers mit einem Histidin bindenden Cu-IDA-Motiv. Dies geschieht in Zusammenarbeit mit Michael Kruppa. Die Synthese des Zielmoleküls ist zum Zeitpunkt des Abschlusses dieser Arbeit noch nicht beendet. Daher wird zum weiteren Fortgang auf die Arbeit von Michael Kruppa verwiesen.

Die Verknüpfung des Kronenetherbausteines **96** zum Dipeptid liefert einen dritten Rezeptor. Dieser bindet Lysinmethylester Dihydrochlorid in Methanol mit einer Bindungsstärke von mindestens $2 \cdot 10^4 \text{ M}^{-1}$. Die beiden Kronenether des Rezeptors sind dabei aufgrund verschiedener Emissionswellenlängen einzeln beobachtbar. Damit lassen sich auch die Bindungskonstanten für beide einzeln bestimmen. Die Titrationsdaten weisen auf eine 1:1 Stöchiometrie des Komplexes hin, was durch eine Auftragung nach Job bestätigt werden kann. Das Zusammenwirken von zwei kovalent verknüpften Kronenethern bewirkt eine Verhundertfachung der Bindungskonstante für Ammonium-Ionen von ca. 200 M^{-1} auf ca. 20000 M^{-1} . Die geeignete Kombination von Einzelbausteinen zu einem größeren Rezeptor ermöglicht somit eine deutliche Erhöhung der Bindungsstärke.

Die Selektivität der Bindung von Tripeptiden wird anhand von drei Verbindungen untersucht. Hierbei handelt es sich um die drei möglichen Kombinationen von zwei Glycinen mit einem Lysin (Peptide jeweils als Methylester-dihydrochlorid). Die Auswertung der Titrationsergebnisse zeigt eine deutliche Präferenz der Bindung für *N*-terminales Lysin mit einer sukzessiven Abnahme der Bindungsstärke bei zunehmendem Abstand zwischen den Ammonium-Gruppen. Damit ist gezeigt, dass die räumliche Vororientierung von Rezeptorbausteinen durch kovalente Verknüpfung ihre Bindungsstärke und die Selektivität der Komplexierung erhöht.

D Experimenteller Teil

1. Allgemeines

1.1. Spektroskopie

IR-Spektren

Bio-Rad FT-IR-Spektrometer FTS 155.

Abkürzungen: s = stark, m = mittel, w = schwach; bs, bm, bw sind breite Signale in der jeweiligen Intensitätsklasse.

NMR-Spektren

- Bruker AC-250 (^1H : 250.1 MHz, ^{13}C : 62.9 MHz), Messtemperatur: 24 °C.
- Bruker Avance 300 (^1H : 300.1 MHz, ^{13}C : 75.5 MHz), Messtemperatur: 27 °C.
- Bruker ARX-400 (^1H : 400.1 MHz, ^{13}C : 100.6 MHz), Messtemperatur: 21 °C.
- Bruker Avance 400 (^1H : 400.1 MHz, ^{13}C : 100.6 MHz), Messtemperatur: 27 °C.
- Bruker Avance 600 (^1H : 600.1 MHz, ^{13}C : 150.1 MHz), Messtemperatur: 27 °C.

Die chemischen Verschiebungen sind in δ -Werten (ppm) relativ zu TMS als internem bzw. externem Standard angegeben. Die Auswertung erfolgt soweit möglich nach erster Ordnung.

Angabemodus: Chemische Verschiebung (Multiplizität, Kopplungskonstante, Anzahl der Protonen, Zuordnung).

Angegebene Zuordnungen sind durch Auswertung von COSY, HMQC, HSQC, ROESY und NOESY 2d-Spektren ermittelt worden.

Abkürzungen: s = Singulett, bs = breites Singulett, d = Dublett, dd = Dublett vom Dublett, t = Triplett, q = Quartett, m = Multiplett, bm = breites Multiplett.

Genauigkeit der Angabe: chemische Verschiebung: 0.01 ppm bei ^1H -NMR, 0.1 ppm bei ^{13}C -NMR; Kopplungskonstante: 0.1 Hz.

Bei jedem Spektrum ist das verwendete Lösungsmittel vermerkt.

UV/Vis-Spektren

Cary BIO 50 UV/Vis/NIR-Spektrophotometer der Firma Varian.

Verwendet werden 1 cm-Quarzküvetten der Firma Hellma sowie Uvasol-Lösungsmittel der Firmen Acros und Aldrich. Angabemodus: λ_{\max} in nm (ϵ)

Fluoreszenzspektren

Cary Eclipse Spektrometer der Firma Varian.

Verwendet werden 1 cm-Quarzküvetten der Firma Hellma sowie Uvasol-Lösungsmittel der Firmen Acros und Aldrich.

Zur Bestimmung der Quantenausbeuten wird Chinin-bisulfat in 1 N H₂SO₄ verwendet.

Massenspektren

– Varian CH-5 (EI)

– Finnigan MAT 95 (CI; FAB und FD)

– Finnigan MAT TSQ 7000 (ESI)

Bei FAB dient Xenon als Ionisationsgas. Die Matrix ist jeweils aufgeführt.

1.2. Analytik

Schmelzpunkte

Die Schmelzpunkte wurden mit einer Apparatur nach Tottoli der Firma Büchi bestimmt und sind unkorrigiert.

Elementaranalysen

Mikroanalytisches Labor des Fachbereichs Chemie und Pharmazie der Universität Regensburg.

1.3. Synthese

Säulenchromatographie

Kieselgel Merck Geduran SI 60.

Dünnschichtchromatographie

Aluminiumfolien Merck 60 F²⁵⁴ Kieselgel, Schichtdicke 0.2 mm.

Detektion durch UV-Licht bei 254 nm oder durch Anfärben. Verwendete Färbereagentien: Ninhydrin in Ethanol, Molybdatophosphorsäure in Ethanol.

Lösungsmittel

Reinigung und Trocknung nach den üblichen Verfahren.^{48,49}

Wenn nicht anders vermerkt, werden handelsübliche Qualitäten eingesetzt.

1.4. Messmethoden

UV- und Fluoreszenztitrationen

Eine Stammlösung der zu untersuchenden Substanz wird hergestellt ($c = 10^{-4} - 10^{-3} \text{ M}$). Die zur Verdünnung nötige Menge Lösungsmittel wird dann in eine UV-Küvette gefüllt und damit die Basislinienkorrektur am UV-Gerät durchgeführt. Anschließend wird die Stammlösung zugegeben (Gesamtvolumen in der Küvette: 2.5 ml) und das Spektrum aufgenommen. Zur Bestimmung von isobestischen Punkten wird in diese UV-Küvette dann noch mehrmals der Titrand entsprechend der zu erwartenden Bindungskonstante zugegeben ($c(\text{Titrand}) = 10^{-3} - 10^0 \text{ M}$, enthält die zu untersuchende Substanz in gleicher Konzentration wie sie in der Küvette vorliegt). Aus den erhaltenen Spektren wird der zur Anregung günstigste (langwelligste) isobestische Punkt ermittelt. Sind keine isobestischen Punkte bestimmbar, wird in der Regel in einem Plateaubereich des UV-Spektrums angeregt. Die Absorption ist dabei kleiner 0.15. Die Fluoreszenzküvette wird ebenso wie die UV-Küvette mit Lösungsmittel und Stammlösung gefüllt und ein UV- und Fluoreszenzspektrum aufgenommen. Nach jeder Zugabe von Titrand werden wiederum UV- und

Fluoreszenzspektrum aufgenommen. Änderungen im UV-Spektrum werden anhand geeignet gewählter Absorptionswellenlängen verfolgt. Änderungen im Fluoreszenzspektrum werden sowohl anhand des Peakmaximums als auch anhand des Gesamtintegrals über die Peakfläche beobachtet.

Job's Plot Analysen

Zwei Lösungen mit Rezeptor und Gast in gleichen Konzentrationen werden hergestellt (ca. $1 \cdot 10^{-4}$ M). Da man „ $\Delta \text{Emission} \cdot X$ “ gegen X aufträgt, muss die Emission um die Emission des reinen Rezeptors korrigiert werden. Hierfür wird ein Spektrum der reinen Lösung (Emission^0) des fluoreszierenden Rezeptors aufgenommen und damit der Korrekturterm ermittelt. Dieser ergibt sich zu: $\Delta \text{Emission}(X) = \text{Emission}(X) - \text{Emission}^0 \cdot X$. Die Punkte für die Auftragung nach Job werden durch sukzessive Zugabe von Gast-Lösung zu der Rezeptor-Lösung ermittelt. Hierbei ändert sich die Gesamtkonzentration nicht, X (Rezeptor) nimmt jedoch ab. Ist die Küvette voll, so wird eine andere verwendet. Hierbei werden 2.5 ml der Lösung der alten Küvette in die neue gefüllt und diese vermessen. Unterschiedliche Emissionswerte werden durch lineare Anpassung überbrückt: $\text{Emission}^2 \cdot x = \text{Emission}^1$. Der Korrekturfaktor x wird dann auf alle weiteren Messungen mit der neuen Küvette angewendet.

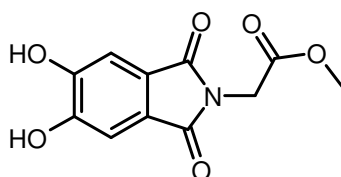
2. Synthese

2.1. Synthese der Verbindungen

Folgende Verbindungen werden nach literaturbekannten Synthesevorschriften dargestellt:

34³⁸, **35**³⁶, **36**³⁷, **50**⁵⁰, **53**⁵¹, **62**⁵², **64**⁵³, **68**⁵⁴, **71**⁵⁵, **83**³⁶, **91**⁵⁶, **92**⁴³, **93**⁵⁷, **94**⁵⁸, **121**⁵⁹.

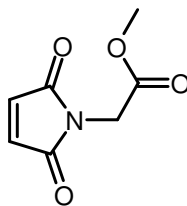
(5,6-Dihydroxy-1,3-dioxo-1,3-dihydro-isoindol-2-yl)-essigsäuremethylester (37)



Verbindung **41** (4.10 g, 10.4 mmol) wird mit 30 ml H₂O, 10 ml THF und 5 ml 1 N HCl versetzt. Das entstandene Zweiphasengemisch wird über Nacht bei RT stark gerührt. Der ausgefallene Feststoff wird abgesaugt und die wässrige Phase noch 3 mal mit je 30 ml EE ausgeschüttelt. Die organischen Phasen werden vereinigt, über MgSO₄ getrocknet und das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer abgezogen. Der zurückbleibende Feststoff wird zusammen mit dem abgesaugten Produkt in 100 ml CCl₄ suspenziert und 30 min im Ultraschallbad beschallt. Die verbliebenen Schwefelspuren lösen sich hierbei im Lösungsmittel und man erhält nach dem Absaugen und Trocknen 2.2 g (8.76 mmol, 85 %) leicht gelbliches Produkt.

Schmp.: 223 – 225°C; **¹H- NMR** (300 MHz, DMSO-d₆): δ [ppm] = 3.63 (s, 3H), 4.28 (s, 2H), 7.13 (s, 2H), 10.42 (bs, 2H); **¹³C- NMR** (75 MHz, DMSO-d₆): δ [ppm] = 38.4 (-, 1C), 52.2 (+, 1C), 109.8 (+, 2C), 123.4 (C_{quart}, 2C), 151.2 (C_{quart}, 2C), 167.1 (C_{quart}, 2C), 168.2 (C_{quart}, 1C); **IR** (KBr): $\bar{\nu}$ (cm⁻¹) = 3352 (bs), 3050 (w), 2963 (w), 1740 (s), 1699 (s), 1600 (m), 1476 (m), 1423 (s), 1320 (s), 1237 (s), 937 (m), 886 (m), 753 (m), 628 (m); **MS** (EI, 70eV) : e/z (%) = 251 (26, M⁺), 192 (100); **C₁₁H₉NO₆** (251.2): ber.: C 52.60 H 3.61 N 5.58, gef.: C 52.28 H 3.41 N 5.52

(2,5-Dioxo-2,5-dihydro-pyrrol-1-yl)-essigsäuremethylester (39)

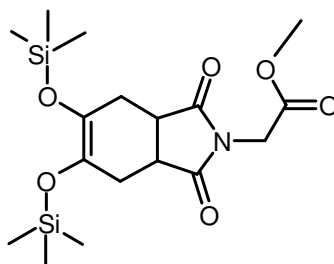


Maleinsäureanhydrid (32.6 g, 0.33 mol) und Glycinmethylester Hydrochlorid (46.0 g, 0.37 mol) werden in 400 ml Dichlormethan vorgelegt, auf 0°C gekühlt und dann innerhalb von 1 h mit 55 ml (40.5 g, 0.40 mol) NEt₃ versetzt. Der Ansatz wird über Nacht weitergerührt und taut dabei auf. Man versetzt mit 200 ml 1 N HCl und schüttelt die wässrige Phase noch 4 mal mit je 100 ml Dichlormethan aus. Die vereinigten organischen Phasen werden am Rotationsverdampfer eingengt und der zurückbleibende weiße Feststoff mit 300 ml Xylol versetzt. Die Suspension wird auf Refluxtemperatur erhitzt, wobei sich der Feststoff löst. Man lässt 1 h unter Wasserabscheidung refluxieren und kühlt dann den Ansatz wieder auf Raumtemperatur ab. Das Lösungsmittel wird abrotiert und der ölige Rückstand mit 100 ml gesättigter NaHCO₃ Lösung und 100 ml Essigsäureethylester versetzt. Die wässrige Phase wird noch 2 mal mit je 50 ml Essigsäureethylester ausgeschüttelt und die vereinigten organischen Phasen mit 50 ml gesättigter NaHCO₃ Lösung und 50 ml gesättigter Kochsalzlösung gewaschen. Man trocknet über MgSO₄ und rotiert das Lösungsmittel ab. Zurück bleiben 17.0 g (0.10 mol, 30 %) des gewünschten Produkts als bräunliches Öl, das für die weitere Umsetzung bereits genügend rein ist. Weitere Aufreinigung kann durch Vakuumdestillation erfolgen (bp. 120°C @ 2*10⁻¹ bar).

¹H- NMR (300 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 3.69 (s, 3 H), 4.22 (s, 2 H), 6.73 (s, 2 H); **¹³C- NMR** (75 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 38.5 (-, 1 C), 52.7 (+, 1 C), 134.5 (+, 2 C), 167.6 (C_{quart}, 1 C), 169.8 (C_{quart}, 2 C)

(Literaturbekannte Verbindung⁶⁰)

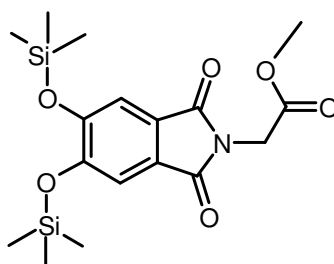
(1,3-Dioxo-5,6-bis-trimethylsilyloxy-1,3,3a,4,7,7a-hexahydro-isoindol-2-yl)-essigsäuremethylester (40)



(2,5-Dioxo-2,5-dihydro-pyrrol-1-yl)-essigsäuremethylester (**39**) (846 mg, 5.0 mmol) und 1.31 ml (1.15 g, 5.0 mmol) 2,3-Bis-trimethylsilyloxy-buta-1,3-dien (**33**) werden in 5 ml Toluol 24 h bei 90°C gerührt. Das Lösungsmittel wird anschließend abrotiert und der Rückstand mittels Kugelrohrdestillation aufgereinigt. (Bp. 195°C @ $4 \cdot 10^{-3}$ mbar) Man erhält 1.45 g (3.63 mmol, 73 %) eines gelblichen Öls, das bei Raumtemperatur langsam erstarrt.

¹H- NMR (300 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 0.09 (s, 18 H), 2.48-2.51 (m, 4H), 3.11 –3.14 (m, 2H), 3.70 (s, 3H), 4.19 (s, 2H); **¹³C- NMR** (75 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = -0.0 (+, 6C), 28.3 (-, 2C), 39.0 (-, 1C), 39.3 (+, 2 C), 52.0 (+, 1C), 128.8 (C_{quart}, 2C), 166.4 (C_{quart}, 1C), 177.9 (C_{quart}, 2C); **MS** (PI-DCIMS, NH₃) : e/z (%) = 417 (100, M+NH₄⁺)

(1,3-Dioxo-5,6-bis-trimethylsilyloxy-1,3-dihydro-isoindol-2-yl)-essigsäure-methylester (41)

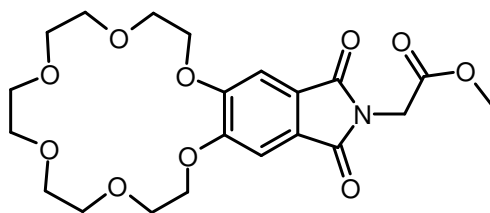


Verbindung **40** (5.50 g, 12.63 mmol) wird mit 829 mg (25.9 mmol) Schwefel versetzt und 20 min bei 230°C gerührt. Hierbei tritt eine Verdunkelung des Öls ein und der darin enthaltende Schwefeltropfen verschwindet fast vollständig. Nach dem Abkühlen wird das erstarrte Öl in 80 ml CCl₄ aufgenommen und mit 5050 mg (77 mmol) Cu-Pulver versetzt. Das Cu-Pulver wird vorher zunächst mit 5 N HCl, dann Wasser, THF und schließlich CCl₄ gewaschen. Nach 30 minütigem Rühren wird das Cu abgesaugt, das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer

abrotiert und der Rückstand per Kugelrohrdestillation (280 °C, 1 10⁻² mmbar) aufgereinigt. Man erhält 4.10 g (10.4 mmol, 82 %) gelbliches Öl, das jedoch noch Schwefelspuren enthält.

¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃): 0.25 (s, 18 H), 3.71 (s, 3 H), 4.33 (s, 2 H), 7.23 (s, 2 H); **¹³C-NMR** (75 MHz, CDCl₃): 0.0 (+, 6 C), 38.5 (-, 1 C), 52.3 (+, 1 C), 115.5 (+, 2 C), 125.8 (C_{quart}, 2 C), 152.1 (C_{quart}, 2 C), 167.1 (C_{quart}, 2 C), 167.8 (C_{quart}, 1 C); **MS** (EI-MS, 70 eV): e/z (%) = 395 (77, M⁺), 336 (82), 264 (21), 248 (100), 147 (11), 73 (86); **HR-MS** (EI-MS, 70 eV): ber. für C₁₇H₂₅NO₆Si₂: 395.1220, gef. :395.1215

(21,23-Dioxo-2,5,8,11,14,17-hexaoxa-22-aza-tricyclo[16.7.0.020,24]-pentacosa-1(18),19,24-trien-22-yl)-essigsäuremethylester (42)

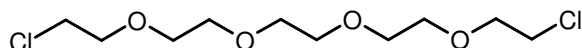


Verbindung **37** (259 mg, 1.03 mmol) wird in 5 ml DMF gelöst und mit 300 mg (2.17 mmol) K₂CO₃ versetzt. Nach 20 minütigem Rühren bei Raumtemperatur werden 248 mg (1.03 mmol) **45** zugegeben, der Ansatz auf 100°C erhitzt und über Nacht bei dieser Temperatur gerührt. Nach dem Abkühlen auf Raumtemperatur werden 8 ml 1 N HCl zugegeben und die wässrige Lösung 6 mal mit je 20 ml CHCl₃ ausgeschüttelt. Die vereinigten organischen Phasen werden über MgSO₄ getrocknet und das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer abgezogen. Das Rohprodukt wird durch Umkristallisation in Essigsäureethylester aufgereinigt. Man erhält 204 mg (0.45 mmol, 44 %) farblosen Feststoff.

Schmp.: 152 – 153°C; **¹H-NMR** (300 MHz, DMSO-d₆): 3.51 (s, 4 H), 3.51 - 3.55 (m, 4 H), 3.58 – 3.62 (m, 4 H), 3.67 (s, 3 H), 3.74 – 3.77 (m, 4 H), 4.26 – 4.30 (m, 4 H), 4.37 (s, 2 H), 7.45 (s, 2 H); **¹³C-NMR** (100 MHz, DMSO-d₆): 38.5 (-, 1 C), 52.3 (+, 1 C), 68.2 (-, 2 C), 68.9 (-, 2 C), 69.5 (-, 2 C), 69.7 (-, 2 C), 69.8 (-, 2 C), 106.6 (+, 2 C), 124.3 (C_{quart}, 2 C), 153.1 (C_{quart}, 2 C), 167.1 (C_{quart}, 2 C), 168.2 (C_{quart}, 1 C); **IR** (KBr): $\bar{\nu}$ (cm⁻¹) = 3445 (bm), 2904 (m), 2870 (m), 1732 (s), 1706 (s), 1599 (m), 1503 (m), 1420 (s), 1388 (s), 1309 (s), 1250 (s), 1221 (s), 1126 (s), 1104 (s), 1044 (m), 951 (s), 757 (m); **MS** (EI-MS, 70 eV): e/z (%) = 453

(4, M⁺), 277 (11), 218 (100), 45 (22), 32 (18), 28 (73); **UV** (MeOH): λ (ϵ) = 247 (42100), 296 (1850), 341 (1770); **C₂₁H₂₇NO₁₀ * 0.5 H₂O**: ber. C 54.54 H 6.10 N 3.03, gef. C 54.16 H 5.72 N 2.84

1-Chloro-2-(2-{2-[2-(2-chloro-ethoxy)-ethoxy]-ethoxy}-ethoxy)-ethan (45)

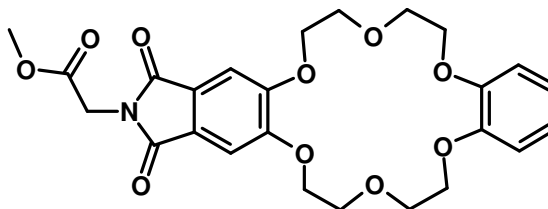


Ethylenglykol (3.10 g, 2.80 ml, 50 mmol) wird in 50 ml 1,1'- Dichlordiethylether gelöst und unter Eisbadkühlung mit 50 ml 50 %iger NaOH – Lösung und 8.50 g (25 mmol) *n*Bu₄NHSO₄ versetzt. Man rührt den Ansatz 24 h bei Raumtemperatur und gibt dann 50 ml Wasser zu. Die organische Phase wird abgetrennt und die wässrige Phase noch 3 mal mit je 50 ml DCM ausgeschüttelt. Die vereinigten organischen Phasen werden über MgSO₄ getrocknet und das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer abgezogen. Der Rückstand wird durch Kieselgel mit PE/EE 6/4 als Laufmittel aufgereinigt [*R_f* (Produkt) = 0.39)]. Man erhält 980 mg (3.56 mmol, 7 %) farbloses Öl.

¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃): 3.59 – 3.64 (m, 16 H), 3.70 – 3.74 (m, 4 H); **¹³C-NMR** (75 MHz, CDCl₃): 42.7 (-, 2 C), 70.6 (-, 2 C), 70.7 (-, 4 C), 71.4 (-, 2 C); **MS** (CI-MS, NH₃): *m/z* (%) = 292 (100, M + NH₄⁺)

(Literaturbekannte Verbindung)

(1-(1,2-Benzo)-10-(4,5-phthalimidyl)-18-krone-6)-essigsäuremethylester (46)

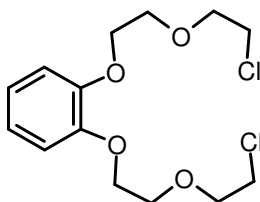


Verbindung **37** (1.27g, 5.06 mmol) wird in 20 ml DMF gelöst, mit 1.47 g (10.6 mmol) K₂CO₃ versetzt und 20 min bei 100°C gerührt. Danach werden 2.12 g (6.57 mmol) **48** in 30 ml DMF und 20 mg (0.12 mmol) KJ zugegeben und über Nacht bei dieser Temperatur gerührt. Nach dem Abkühlen auf Raumtemperatur wird der Ansatz mit 50 ml H₂O versetzt und 3 mal mit je 50 ml Dichlormethan ausgeschüttelt. Die vereinigten organischen Phasen werden mit 50 ml

H₂O gewaschen, über MgSO₄ getrocknet und das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer abgezogen. Der Rückstand wird durch Säulenchromatographie an Kieselgel mit CHCl₃/EtOH 20/1 als Laufmittel aufgereinigt [*R_f* (Produkt) = 0.18]. Man erhält 2.35 g (4.69 mmol, 93%) weißen Feststoff als Produkt, der für die Analytik noch in CHCl₃/EtOH 10/1 umkristallisiert wird.

Schmp.: 206 – 208°C; **¹H-NMR** (300 MHz, CDCl₃): 3.74 (s, 3 H), 4.01 – 4.05 (m, 8 H), 4.15 – 4.18 (m, 4 H), 4.24 – 4.26 (m, 4 H), 4.38 (s, 2 H), 6.84 – 6.91 (m, 4 H), 7.27 (s, 2 H); **¹³C-NMR** (75 MHz, CDCl₃): 38.8 (-, 1 C), 52.6 (+, 1 C), 68.4 (-, 2 C), 69.2 (-, 2 C), 69.3 (-, 2 C), 70.1 (-, 2 C), 106.5 (+, 2 C), 113.4 (+, 2 C), 121.3 (+, 2 C), 125.4 (C_{quart}, 2 C), 148.6 (C_{quart}, 2 C), 153.5 (C_{quart}, 2 C), 167.7 (C_{quart}, 2 C), 168.0 (C_{quart}, 1 C); **IR** (KBr): (cm⁻¹) = 3071 (w), 2950 (w), 2874 (w), 1753 (s), 1713 (s), 1599 (m), 1505 (s), 1415 (s), 1308 (s), 1240 (m), 1219 (s), 1130 (s), 941 (m), 745 (m); **MS** (ESI-MS, CH₂Cl₂/MeOH + 10 mmol/l NH₄OAc): *e/z* (%) = 519 (100, M + NH₄⁺), 502 (46, MH⁺); **UV** MeOH + 1.6 % CHCl₃): λ (ε) = 273 (3870), 296 (1910), 298 (1900), 344 (2040); **C₂₅H₂₇NO₁₀**: ber.: C 59.88 H 5.43 N 2.79, gef.: C 59.19 H 5.45 N 2.77

1,2-Bis-[2-(2-chloro-ethoxy)-ethoxy]-benzol (48)

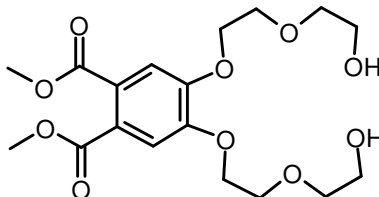


Brenzkatechin (6.67 g, 60.6 mmol) wird in 70 ml (86 g, 600 mmol) 1,1'- Dichlordiethylether gelöst und mit 100 ml 20 %iger Et₄NOH - Lösung (140 mmol) versetzt. Unter starkem Rühren wird der Ansatz über 24 h bei 80 °C gerührt. Die organische Phase wird nach dem Abkühlen abgetrennt und die wässrige Phase noch einmal mit 100 ml Dichlormethan ausgeschüttelt. Die vereinigten organischen Phasen werden mit 100 ml 1 N NaOH und 100 ml Wasser gewaschen und über MgSO₄ getrocknet. Nach dem Abrotieren des Lösungsmittels am Rotationsverdampfer wird der Rückstand durch Säulenchromatographie an Kieselgel mit PE/EE 80/20 als Laufmittel aufgereinigt [*R_f* (Produkt) = 0.29]. Man erhält 4.30 g (13.3 mmol, 22 %) farbloses Öl.

¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃): 3.66 (t, *J* = 5.6 Hz, 4 H), 3.86 (t, *J* = 5.9 Hz, 4 H), 3.90 (t, *J* = 4.8 Hz, 4 H), 4.18 (t, *J* = 4.8 Hz, 4 H), 6.92 (s, 4 H)

(Literaturbekannte Verbindung⁶¹)

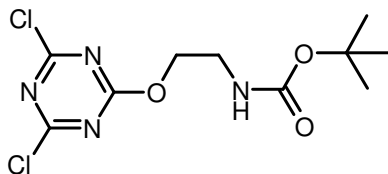
4,5-Bis-[2-(2-hydroxy-ethoxy)-ethoxy]-phthalsäuredimethylester (51)



Dimethyl-4,5-dihydroxyphthalat (2.26 g, 10 mmol) wird in 20 ml DMF gelöst und mit 3.04 g K₂CO₃ versetzt. Danach werden 5.73 g Diethylenglykolmonotosylat (22.0 mmol), gelöst in 20 ml DMF, über 8 h bei 60°C zugegeben und noch weitere 10 h bei dieser Temperatur gerührt. Nach dem Abkühlen wird der Ansatz in 80 ml einer Mischung aus Eis und gesättigter Ammoniumchloridlösung gegeben. Die Mischung wird vier mal mit je 40 ml Dichlormethan ausgeschüttelt, die vereinigten organischen Phasen zunächst mit 40 ml H₂O gewaschen und dann über MgSO₄ getrocknet. Das Lösungsmittel wird schließlich am Rotationsverdampfer abgezogen. Der Rückstand wird durch Säulenchromatographie mit Et₂O/EtOH 80/20 an Kieselgel gereinigt (*R_f* = 0.33). Man erhält 1.98 g (4.92 mmol, 49 %) eines farblosen Öls.

¹H- NMR (250 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 3.49 (s, 2H), 3.65 – 3.68 (m, 4H), 3.72 – 3.76 (m, 4H), 3.87 (s, 6H), 3.89 – 3.93 (m, 4H), 4.20 – 4.23 (m, 4H), 7.21 (s, 2H); **¹³C- NMR** (63 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 52.6 (+, 2C), 61.6 (-, 2C), 68.7 (-, 2C), 69.0 (-, 2C), 72.8 (-, 2C), 113.1 (+, 2C), 125.4 (C_{quart}, 2C), 150.1 (C_{quart}, 2C), 167.7 (C_{quart}, 2C); **IR** (NaCl): $\bar{\nu}$ (cm⁻¹) = 3380 (bm), 2891 (m), 2879 (m), 1721 (s), 1599 (m), 1520 (m), 1436 (m), 1352 (m), 1291 (s), 1201 (s), 1129 (s), 1051 (m), 977 (w), 943 (w), 885 (w), 782 (w); **MS** (PI-MS/DCI, NH₃) : *e/z* (%) = 822 (1, 2M+NH₄⁺), 420 (100, M+NH₄⁺), 403 (7, MH⁺); **HRMS** (PI-MS/DCI, NH₃) : ber. für C₁₈H₂₆O₁₀: 402.1526 gef.: 402.1524; **C₁₈H₂₆O₁₀** (402): ber. C 53.73 H 6.51, gef. C 53.47 H 6.46

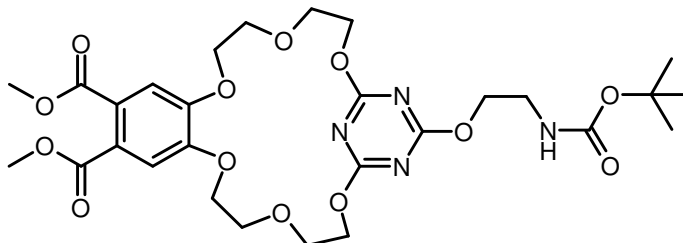
[2-(4,6-Dichloro-[1,3,5]triazin-2-yloxy)-ethyl]-carbaminsäure-tert-butylester (54)



Trichlortriazin (4.42 g, 24.0 mmol) wird mit 3.44 g (21.0 mmol) *N*-*boc*-Aminoethanol in 100 ml Toluol vorgelegt und nacheinander mit 528 mg (2.00 mmol) 18-Krone-6 und 3.32 g (24.0 mmol) K₂CO₃ versetzt. Der Ansatz wird über 2 h bei 0°C gerührt und dann 24 h bei Raumtemperatur. Zuletzt wird noch 1 h auf 60°C erhitzt. Die Reaktionsmischung wird abfiltriert und das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer abgezogen. Der Rückstand wird durch Säulenchromatographie an Kieselgel mit PE/EE 80/20 als Laufmittel aufgereinigt. (R_f = 0.5). Man erhält 2.63 g (8.50 mmol, 35%) eines farblosen Öls.

¹H- NMR (300 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 1.37 (s, 9H), 3.47 –3.52 (m, 2H), 4.48 (t, J = 5 Hz, 2H), 4.92 (bs, 1H); **¹³C- NMR** (75 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 28.3 (+, 3C), 39.2 (-, 1C), 60.4 (-, 1C), 79.9 (C_{quart}, 1C), 155.7 (C_{quart}, 1C), 170.9 (C_{quart}, 1C), 172.6 (C_{quart}, 2C); **IR** (KBr): $\bar{\nu}$ (cm⁻¹) = 3358 (m), 3282 (m), 3030 (bs), 2782 (s), 2450 (w), 1723 (s), 1598(m), 1547 (s); 1514 (s), 1476 (s), 1399 (s), 1331 (m), 1308 (m), 1257 (m), 1200 (m), 1181 (m), 1055 (s), 992 (m), 767 (s), 536 (s); **MS** (PI-MS/DCI, NH₃) : e/z (%) = 326 (100, M+NH₄⁺), 270 (75); **C₁₀H₁₄Cl₂N₄O₃** (309.15): ber. C 38.85 H 4.56 N 18.12 Cl 22.94, gef. C 38.84 H 4.57 N 17.69 Cl 23.03

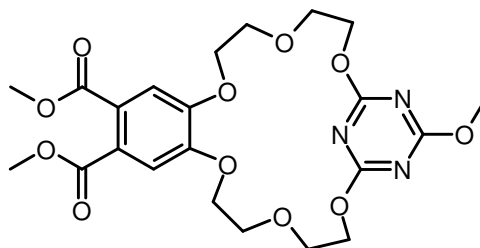
24-(2-tert-Butoxycarbonylamino-ethoxy)-2,5,8,15,18,21-hexaoxa-23,25,26-triazatricyclo[20.3.1.09,14]hexacos-1(25),9,11,13,22(26),23-hexaen-11,12-dicarbonsäuredimethylester (55)



Verbindung **51** (1.74 g, 4.3 mmol) und **54** (1.34 g, 4.3 mmol) werden in je 20 ml Acetonitril gelöst und über 60 h zu 11 g (80 mmol) K_2CO_3 in 50 ml Acetonitril bei 60°C gegeben. Nach Abschluss der Zugabe wird noch weitere 24 h bei gleicher Temperatur gerührt. Die Reaktionsmischung wird über Celite abfiltriert und das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer abgezogen. Der Rückstand wird durch Säulenchromatographie an Kieselgel mit EE als Laufmittel aufgereinigt. Man erhält 375 mg (0.58 mmol, 14 %) eines farblosen Feststoffes.

1H -NMR (400 MHz, $CDCl_3$): δ [ppm] = 1.35 (s, 9H), 3.38 – 3.40 (m, 2H), 3.79 (s, 6H), 3.83 – 3.86 (m, 8H), 4.08 – 4.10 (m, 4H), 4.25 (t, J = 5 Hz, 2H), 4.69 – 4.61 (m, 4H), 4.96 (bs, 1H), 7.08 (s, 2H); **^{13}C -NMR** (100 MHz, $CDCl_3$): δ [ppm] = 27.4 (+, 3C), 38.4 (-, 1C), 51.5 (+, 2C), 65.8 (-, 2C), 66.4 (-, 1C), 68.3 (-, 2C), 68.4 (-, 4C), 78.4 (C_{quart} , 1C), 112.5 (+, 2C), 124.3 (C_{quart} , 2C), 149.3 (C_{quart} , 2C), 166.7 (C_{quart} , 2C), 171.9 (C_{quart} , 2C), 172.1 (C_{quart} , 1C); **MS** (ESI, MeOH/ CH_2Cl_2 + 10 mmol/l NH_4OAc) : m/z (%) = 677 (18, MK^+), 661 (14, MNa^+), 639 (24, MH^+), 583 (20), 539 (22), 496 (100), 464 (50), 391 (35)

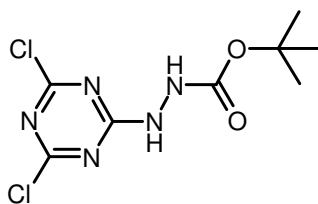
24-Methoxy-2,5,8,15,18,21-hexaoxa-23,25,26-triaza-tricyclo[20.3.1.09,14]hexacosal(25),9,11,13,22(26),23-hexaen-11,12-dicarbonsäuredimethylester (52)



Verbindung **51** (280 mg, 0.70 mmol) und 2,4,6-Trichlortriazin (130 mg, 0.70 mmol) werden in 40 ml THF gelöst und über 17 h zu 200 mg (5.00 mmol) in 70 ml THF bei 45°C gegeben. Nach Abschluss der Zugabe wird noch weitere 24 h bei gleicher Temperatur gerührt. Die Reaktionsmischung wird in 50 ml Dichlormethan und 50 ml gesättigte NH₄Cl-Lösung gegeben und die wässrige Phase noch 5 mal mit je 50 ml Dichlormethan ausgeschüttelt. Die vereinigten organischen Phasen werden mit 50 ml H₂O gewaschen, über MgSO₄ getrocknet und das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer abgezogen. Der Rückstand wird durch Säulenchromatographie an Kieselgel mit Et₂O/Essigsäureethylester 8/2 (*R_f* = 0.59) als Laufmittel aufgereinigt. Man erhält 65 mg (0.13 mmol, 18 %) eines farblosen Feststoffes.

¹H- NMR (250 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 3.85 (s, 6 H), 3.88 – 3.93 (m, 11 H), 4.13 – 4.17 (m, 4 H), 4.64 – 4.68 (m, 4 H), 7.14 (s, 2 H); **¹³C- NMR** (63 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 52.5 (+, 2 C), 55.3 (+, 1 C), 66.6 (-, 2 C), 69.2 (-, 2 C), 69.3 (-, 2 C), 69.4 (-, 2 C), 113.4 (+, 2 C), 125.3 (C_{quart}, 2 C), 150.3 (C_{quart}, 2 C), 167.7 (C_{quart}, 2 C), 172.9 (C_{quart}, 2 C), 173.8 (C_{quart}, 1 C); **MS** (EI-MS, 70 eV) : *m/z* (%) = 509 (18, M⁺), 478 (11), 284 (15), 272 (42), 252 (16), 250 (16), 240 (13), 227 (14), 221 (74), 214 (30), 197 (13), 183 (31), 169 (100), 158 (13), 144 (13), 127 (12), 113 (14), 101 (11), 70 (36)

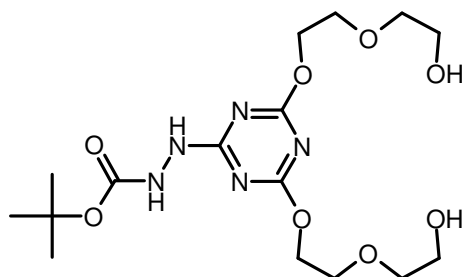
***N'*-(4,6-Dichlor-[1,3,5]triazin-2-yl)-hydrazincarbonsäure- tert-butylester (58)**



2,4,6-Trichlortriazin (3.69 g, 20.0 mmol) wird in 80 ml Chloroform gelöst und mit 1.85 g (22.0 mmol) NaHCO₃ in 40 ml H₂O versetzt. Der Ansatz wird auf 0°C gekühlt und unter starkem Rühren wird 2.64 g (20.0 mmol) *Boc*-Hydrazid in 20 ml Chloroform innerhalb von 30 min zugetropft. Nach 1 h Rühren bei 0°C lässt man den Ansatz auftauen und trennt die Phasen. Die organische Phase wird noch zwei mal mit je 20 ml H₂O gewaschen und über MgSO₄ getrocknet. Nach Abziehen des Lösungsmittels erhält man 5.60 g (20.0 mmol, quant.) des gewünschten Produkts als weißen Feststoff.

¹H- NMR (300 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 1.43 (s, 9 H), 6.70 (bs, 1 H), 8.14 (bs, 1 H); **¹³C- NMR** (75 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 28.1 (+, 3 C), 83.0 (C_{quart}, 1 C), 154.9 (C_{quart}, 1 C), 168.0 (C_{quart}, 1 C), 170.6 (C_{quart}, 1 C), 171.8 (C_{quart}, 1 C); **IR** (KBr): $\bar{\nu}$ (cm⁻¹) = 3254 (s), 3135 (m), 2988 (m), 1732 (s), 1614 (s), 1531 (s), 1505 (s), 1412 (s), 1371 (m), 1309 (s), 1252 (s), 1175 (s), 1001 (w), 844 (s), 799 (s); **MS** (PI-CIMS, NH₃) : e/z (%) = 297 (19, M+NH₄⁺), 280 (100, MH⁺), 224 (35, MH⁺-C₄H₈), 180 (35, MH⁺-C₄H₈-CO₂)

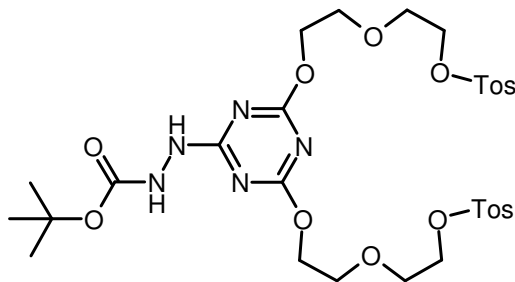
***N'*-{4,6-Bis-[2-(2-hydroxy-ethoxy)-ethoxy]-[1,3,5]triazin-2-yl}-hydrazincarbonsäure-tert-butylester (59)**



Diethylenglykol-THP-ether (6.50 g, 34.0 mmol) wird in 50 ml THF vorgelegt und mit 1.60 g NaH (40 % in Parafinöl, 40.0 mmol) versetzt. Nach 1 h Rühren bei Raumtemperatur werden 4.30 g 58 (15.4 mmol) zugegeben und 48 h refluxiert. Nach dem Abkühlen wird der Ansatz auf 50 ml Eiswasser abgegossen, 3 mal mit je 30 ml Essigsäureethylester ausgeschüttelt, die vereinigten organischen Phasen mit 30 ml gesättigter NaCl-Lösung gewaschen und über MgSO₄ getrocknet. Nach dem Abdestillieren des Lösungsmittels am Rotationsverdampfer erhält man 10.9 g Öl. Dieses wird ohne weitere Aufreinigung von den THP-Schutzgruppen entschützt. Hierzu werden die 10.9 g in eine Mischung aus 100 ml Eisessig, 50 ml THF und 25 ml H₂O gegeben und 24 h bei 45°C gerührt. Anschließend wird das Lösungsmittel weitestgehend abrotiert und mit 10 %iger NaCO₃ Lösung auf pH 8 gebracht. Diese wässrige Phase wird 3 mal mit je 50 ml Dichlormethan ausgeschüttelt, die vereinigten organischen Phasen mit 50 ml Wasser gewaschen und über MgSO₄ getrocknet. Man erhält 5.82 g eines farblosen Öls. Nach dem Aufreinigen des Rohprodukts durch Säulenchromatographie an Kieselgel mit EE/EtOH 9:1 als Laufmittel (*R_f* = 0.18) erhält man 1.68 g (4.00 mmol, 26 %) **59** als farbloses Öl.

¹H-NMR (300 MHz, DMSO): δ [ppm] = 1.43 (s, 9 H), 3.46 – 3.52 (m, 8 H), 3.69 – 3.72 (m, 4 H), 4.36 – 4.39 (m, 4 H), 4.64 (t, *J* = 5.4 Hz, 2 H), 8.97 (bs, 1 H), 9.48 (bs, 1 H); **¹³C-NMR** (75 MHz, DMSO): δ [ppm] = 28.0 (+, 3 C), 60.1 (-, 2 C), 66.1 (-, 1 C), 66.1 (-, 1 C), 68.2 (-, 1 C), 68.2 (-, 1 C), 72.2 (-, 1 C), 72.2 (-, 1 C), 79.2 (C_{quart}, 1 C), 155.2 (C_{quart}, 1 C), 169.6 (C_{quart}, 1 C), 171.1 (C_{quart}, 1 C), 171.6 (C_{quart}, 1 C); **IR** (NaCl): (cm⁻¹) = 3280 (bs), 2972 (m), 2935 (m), 2873 (m), 1727 (m), 1578 (s), 1470 (m), 1423 (s), 1333 (s), 1235 (m), 1155 (s), 1220 (m), 1070 (m), 883 (w), 815 (m), 754 (m); **MS** (PI-CIMS, CH₄) : *e/z* (%) = 420 (100, MH⁺), 364 (38), 320 (14), 305 (20); **HRMS** (EI, 70 eV): ber. für C₁₆H₂₉N₅O₈: 419.2014, gef.: 419.2014

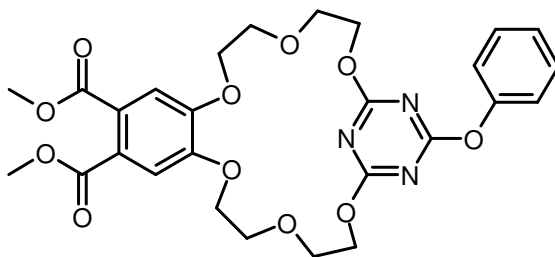
N'*-{4,6-Bis-[2-(2-(toluol-4-sulfonyloxy)-ethoxy)-ethoxy]-[1,3,5]triazin-2-yl]-hydrazin-carbonsäure-tert-butylester **60*



Verbindung **59** (730 mg, 1,74 mmol) wird in 10 ml Pyridin vorgelegt. Bei 0°C werden über 2 h 1.00 g Tosylchlorid (52.0 mmol) in 2 ml THF zugegeben. Der Ansatz wird über Nacht bei Raumtemperatur weitergerührt. Das Lösungsmittel wird abrotiert, der Rückstand mit 20 ml 5 %iger KHSO₄ Lösung und Eis versetzt und drei mal mit je 20 ml Dichlormethan ausgeschüttelt. Die vereinigten organischen Phasen werden mit 20 ml gesättigter NaHCO₃ Lösung und 20 ml H₂O gewaschen und über MgSO₄ getrocknet. Nach dem Abziehen des Lösungsmittels am Rotationsverdampfer bleiben 1.08 g Rohprodukt, das durch Säulenchromatographie an Kieselgel mit einem Laufmittelgradient von PE/EE 20/80 bis 10/90 aufgereinigt [*R_f* (10/90) = 0.68]. Man erhält 560 mg (0.77 mmol, 44 %) farbloses Öl.

¹H- NMR (300 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 1.45 (s, 9 H), 2.42 (s, 6 H), 3.67 – 3.73 (m, 8 H), 4.11 – 4.15 (m, 4 H), 4.36 – 4.44 (m, 4 H), 6.64 (bs, 1 H), 7.09 (bs, 1 H), 7.32 (d, *J* = 8.5 Hz, 4 H), 7.78 (d, *J* = 8.4 Hz, 4 H); **¹³C- NMR** (75 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 21.6 (+, 2 C), 28.2 (+, 3 C), 66.8 (-, 2 C), 68.7 (-, 2 C), 69.0 (-, 2 C), 69.2 (-, 2 C), 81.8 (C_{quart}, 1 C), 128.0 (+, 4 C), 129.9 (+, 4 C), 132.8 (C_{quart}, 2 C), 144.9 (C_{quart}, 2 C), 155.4 (C_{quart}, 1 C), 170.0 (C_{quart}, 1 C), 171.6 (C_{quart}, 1 C), 172.3 (C_{quart}, 1 C); **IR** (KBr): $\bar{\nu}$ (cm⁻¹) = 3420 (bm), 2967 (m), 2924 (m), 1734 (m), 1577 (s), 1449 (m), 1419 (m), 1333 (s), 1175 (s), 1123 (s), 1032 (m), 1009 (m), 923 (m), 816 (m), 773 (w), 682 (m), 660 (m); **MS** (ESI, CH₂Cl₂/MeOH + 10 mmol/l NH₄Ac) : *m/z* (%) = 728 (100, MH⁺), 672 (22, MH⁺-C₄H₈)

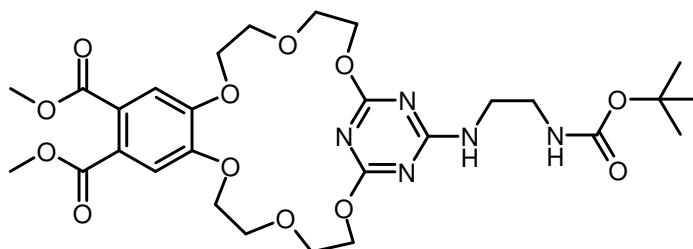
24-Phenoxy-2,5,8,15,18,21-hexaoxa-23,25,26-triaza-tricyclo[20.3.1.0^{9,14}]hexacosan-1(25),9,11,13,22(26),23-hexaen-11,12-dicarbonsäuredimethylester (63)



1,3-Dichlor-5-phenoxy triazin (296 mg, 0.73 mmol) und 162 mg (0.67 mmol) **51** werden in 8 ml MeCN gelöst und mit 960 mg (6.95 mmol) K₂CO₃ versetzt. Nach 24 h Refluxieren wird die abgekühlte Mischung auf 50 ml H₂O gegossen und drei mal mit je 50 ml Essigsäureethylester ausgeschüttelt. Die vereinigten organischen Phasen werden mit 50 ml gesättigter NaCl Lösung gewaschen, über MgSO₄ getrocknet und das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer abgezogen. Nach Aufreinigung des Rückstands durch Säulenchromatographie an Kieselgel mit Essigsäureethylester als Laufmittel (*R_f* = 0.48) erhält man 120 mg (0.21 mmol, 35 %) des gewünschten Produkts als weißen Feststoff.

Schmp.: 175 – 180°C; **¹H- NMR** (400 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 3.86 (s, 6 H, -OMe), 3.87 – 3.91 (m, 8 H, -CH₂-O-CH₂-), 4.15 – 4.17 (m, 4 H, Phthalsäure-O-CH₂-), 4.64 – 4.66 (m, 4 H, Triazin-O-CH₂-), 7.10 – 7.12 (m, 2 H, Phenol: 2,6 CH), 7.16 (s, 2 H, Phthalsäure: 3,6 CH), 7.18 – 7.24 (m, 1 H, Phenol: 4 CH), 7.34 – 7.39 (m, 2 H, Phenol: 3,5 CH); **¹³C- NMR** (100 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 52.5 (+, 2 C, -OMe), 66.6 (-, 2 C, Triazin-O-CH₂-), 69.1 (-, 2 C, -CH₂-O-CH₂-), 69.2 (-, 2 C, -CH₂-O-CH₂-), 69.3 (-, 2 C, Phthalsäure-O-CH₂-), 113.6 (+, 2 C, Phthalsäure: 3,6 CH), 121.5 (+, 2 C, Phenol: 2,6 CH), 125.3 (C_{quart}, 2 C, Phthalsäure: C-C=O), 125.8 (+, 1 C, 4-Phenol), 129.4 (+, 2 C, Phenol: 3,5 CH), 150.4 (C_{quart}, 2 C, Phthalsäure: C-O-CH₂-), 151.7 (C_{quart}, 1 C, Phenol: 1 CH), 167.7 (C_{quart}, 2 C, Phthalsäure-C=O), 173.2 (C_{quart}, 2 C, Triazin: C-O-CH₂-), 173.4 (C_{quart}, 1 C, Triazin: C-O-Ph); **IR** (KBr): $\bar{\nu}$ (cm⁻¹) = 3443 (bw), 2949 (m), 2917 (m), 2870 (m), 1734 (s), 1558 (s), 1377 (s), 1330 (s), 1289 (s), 1196 (s), 1123 (s), 1035 (m), 970 (m), 881 (m), 813 (m), 781 (m); **MS** (PI-DCIMS, NH₃): *e/z* (%) = 572 (100, MH⁺), 211 (11), 133 (16)

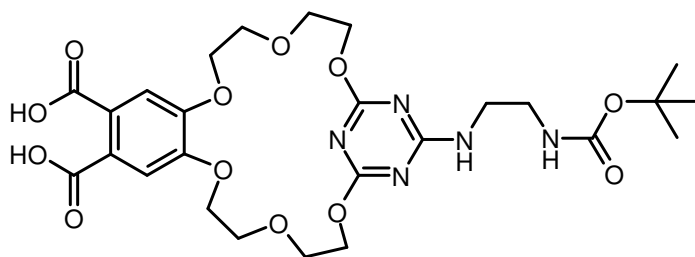
24-(2-tert-Butoxycarbonylamino-ethylamino)-2,5,8,15,18,21-hexaoxa-23,25,26-triazatricyclo[20.3.1.0^{9,14}]hexacosa-1(25),9,11,13,22(26),23-hexaen-11,12-dicarbonsäuredimethylester (65)



Verbindung **63** (26 mg, 0.045 mmol) wird in einer Mischung aus 1 ml CHCl₃ und 1 ml MeCN gelöst, mit 9 mg (0.05 mmol) *N*-Boc-Ethylendiamin und einer Spatelspitze DMAP versetzt und 12 d refluxiert. Das Lösungsmittel wird danach abgezogen und der Rückstand durch Säulenchromatographie an Kieselgel mit EE als Laufmittel aufgereinigt (*R_f* = 0.25). Man erhält 29 mg (0.045 mmol, 100 %) des gewünschten Produktes als weißen Feststoff.

Schmp.: 162 – 163°C; **¹H- NMR** (300 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 1.39 (s, 9 H, *Boc*: CH₃), 3.25 – 3.31 (m, 2 H), 3.42 – 3.48 (m, 2 H), 3.85 (s, 6 H, -OMe), 3.90 – 3.93 (m, 8 H), 4.14 – 4.17 (m, 4 H), 4.56 – 4.62 (m, 4 H), 5.02 (t, *J* = 4.9 Hz, 1 H, *NH*), 6.50 (t, *J* = 4.9 Hz, 1 H, *NH*), 7.12 (s, 1 H), 7.14 (s, 1 H); **¹³C- NMR** (75 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 28.4 (+, 3 C), 40.2 (-, 1 C), 41.0 (-, 1 C), 52.6 (+, 1 C), 52.6 (+, 1 C), 65.9 (-, 1 C), 66.0 (-, 1 C), 69.4 (-, 4 C), 69.5 (-, 2 C), 79.3 (C_{quart}, 1 C), 113.0 (+, 1 C), 113.0 (+, 1 C), 125.0 (C_{quart}, 1 C), 125.3 (C_{quart}, 1 C), 150.1 (C_{quart}, 1 C), 150.2 (C_{quart}, 1 C), 156.2 (C_{quart}, 1 C), 167.7 (C_{quart}, 1 C), 167.9 (C_{quart}, 1 C), 168.5 (C_{quart}, 1 C), 171.1 (C_{quart}, 1 C), 171.8 (C_{quart}, 1 C); **IR** (KBr): $\bar{\nu}$ (cm⁻¹) = 3357 (m), 3267 (m), 3144 (m), 2961 (m), 1709 (s), 1686 (s), 1636 (s), 1595 (s), 1545 (s), 1462 (s), 1365 (s), 1337 (s), 1298 (s), 1175 (s), 1130 (s), 1075 (s), 1034 (s), 984 (m), 945 (m), 872 (m), 808 (m); **MS** (ESI, CH₂Cl₂/MeOH + 10 mmol/l NH₄Ac) : *e/z* (%) = 638 (100, MH⁺), 582 (36, MH⁺ - C₄H₈), 538 (87, MH⁺ - C₄H₈ - CO₂); **UV** (MeOH): λ (ε) = 268 (8200), 222 (39700); **HRMS** (PI-LSIMS, MeOH/Glycerin): ber. für C₂₈H₃₉N₅O₁₂*H⁺: 638.2673, gef.: 238.2669

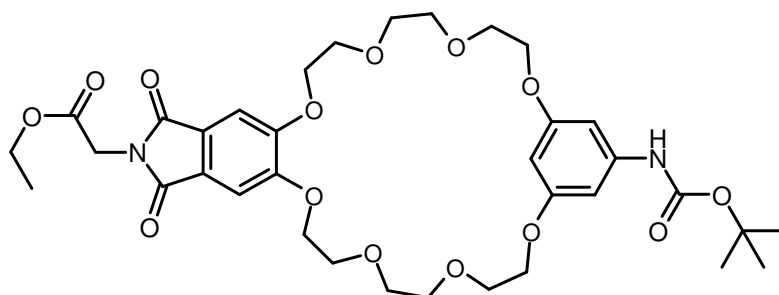
24-(2-*tert*-Butoxycarbonylamino-ethylamino)-2,5,8,15,18,21-hexaoxa-23,25,26-triazatricyclo[20.3.1.0^{9,14}]hexacos-1(25),9,11,13,22(26),23-hexaen-11,12-dicarbonsäure (66)



Verbindung **65** (40 mg, 0.062 mmol) wird in 3 ml THF vorgelegt und mit 3 ml (3 mmol) 1 N LiOH Lösung versetzt. Nach 6 h Rühren bei Raumtemperatur wird die Reaktionslösung in 20 ml 5 %ige KHSO₄ Lösung eingegossen und drei mal mit je 20 ml Essigsäureethylester extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden über MgSO₄ getrocknet und das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer abgezogen. Man erhält 30 mg (0.05 mmol, 79 %) des gewünschten Produkts als weißen Feststoff.

¹H- NMR (300 MHz, MeOD): δ [ppm] = 1.39 (s, 9 H), 3.17 (t, J = 6.1 Hz, 2 H), 3.85 - 3.93 (m, 10 H), 4.14 – 4.18 (m, 4 H), 4.56 – 4.63 (m, 4 H), 7.27 (s, 1 H), 7.29 (s, 1 H); **MS** (ESI, CH₂Cl₂/MeOH + 10 mmol/l NH₄Ac) : m/z (%) = 608 (100, M-H⁺)

(1-(1,3-(5-(*tert*-butoxycarbonyl)amino-benzo)-14-(4,5-phthalimidyl)-25-krone-8)-essigsäureethylester (67)

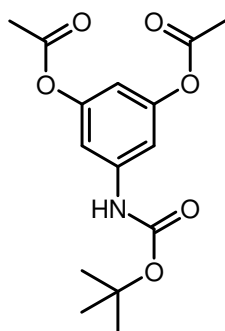


Glycinethylester-hydrochlorid (40.5 mg, 0.29 mmol) wird zusammen mit 195 mg (0.29 mmol) **75** in 8 ml DMF vorgelegt und nacheinander mit 86.2 mg (0.64 mmol) HOBt, 0.11 ml (99 mg, 0.64 mmol) EDC und 0.16 ml (119 mg, 0.96 mmol) DIPEA versetzt. Nach 3 h Rühren bei Raumtemperatur wird über Nacht auf 60°C erhitzt. Das Lösungsmittel wird von der abgekühlten Lösung abgezogen und der Rückstand in einer Mischung aus 20 ml 5 %iger Na₂CO₃ Lösung und 30 ml Essigsäureethylester aufgenommen. Die wässrige Phase wird

noch drei mal mit je 20 ml Essigsäureethylester ausgeschüttelt und die vereinigten organischen Phasen mit 20 ml H₂O gewaschen. Es wird über MgSO₄ getrocknet und das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer abgezogen. Der Rückstand wird durch Säulenchromatographie an Kieselgel mit Essigsäureethylester als Laufmittel gereinigt. (R_f = 0.53). Man erhält 69 mg (0.096 mmol, 33 %) eines farblosen Öls.

¹H- NMR (400 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 1.28 (t, J = 7.2 Hz, 3H), 1.50 (s, 9H), 3.70 – 3.75 (m, 8H), 3.74 – 3.81 (m, 4H), 3.89 – 3.92 (m, 4H), 4.06 – 4.08 (m, 4H), 4.20 – 4.26 (m, 6H), 4.36 (s, 2H), 6.20 (t, J = 2.2 Hz, 1H), 6.54 (d, J = 2.2 Hz, 2H), 6.70 (s, 1H), 7.32 (s, 2H); **¹³C- NMR** (100 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 14.0 (+, 1C), 28.3 (+, 3C), 38.8 (-, 1C), 61.8 (-, 1C), 67.8 (-, 2C), 69.2 (-, 2C), 69.5 (-, 2C), 69.8 (-, 2C), 71.1 (-, 4C), 80.3 (C_{quart}, 1C), 97.4 (+, 1C), 98.6 (+, 2C), 108.0 (+, 2C), 125.3 (C_{quart}, 2C), 140.1 (C_{quart}, 1C), 152.4 (C_{quart}, 1C), 153.8 (C_{quart}, 2C), 160.0 (C_{quart}, 2C), 167.6 (C_{quart}, 2C), 167.8 (C_{quart}, 1C); **IR** (KBr): $\bar{\nu}$ (cm⁻¹) = 3315 (m), 3079 (w), 2970 (m), 2932 (m), 2877 (m), 1749 (s), 1704 (s), 1605 (s), 1549 (m), 1456 (m), 1422 (s), 1381 (m), 1313 (m), 1221 (s), 1161 (s), 1123 (s), 1045 (s), 941 (m), 755 (m); **MS** (LSIMS, MeOH/ Glycerin) : e/z (%) = 719.2 (20, MH⁺), 619.2 (100), 369 (23); **HR-MS** (LSIMS, MeOH/ Glycerin): ber. für C₃₅H₄₆N₂O₁₄ *H⁺: 719.3027 gef.: 719.302

3-(Acetyloxy)-5-[(tert-butoxycarbonyl)amino]phenylacetat (69)

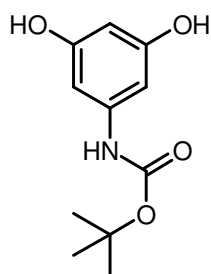


3,5-Diacetyloxybenzoesäure (2.38 g, 10 mmol) wird in 10 ml SOCl₂ vorgelegt, mit 10 µl DMF versetzt und 2 h bei 50°C gerührt. Danach wird das Lösungsmittel abgezogen, der Rückstand noch zwei mal mit je 5 ml Benzol gewaschen und diese Fraktionen ebenfalls abgezogen. Der zurückbleibende gelbe Feststoff wird in 50 ml Aceton aufgenommen und langsam zu 1.63 g (25.0 mmol) NaN₃ in 10 ml H₂O bei 0°C gegeben. Hierbei fällt sofort ein weißer Niederschlag aus. Nach vollendeter Zugabe lässt man noch 10 min weiterrühren. Der

Ansatz wird zu 50 ml CH₂Cl₂ / 100 ml H₂O gegeben, die Phasen getrennt und die wässrige Phase noch 2 mal mit je 50 ml CH₂Cl₂ ausgeschüttelt. Die vereinigten organischen Phasen werden über MgSO₄ getrocknet und das Lösungsmittel, zuletzt am Hochvakuum, abgezogen. Der zurückbleibende weiße Feststoff wird in 50 ml Toluol vorgelegt und mit 5 ml (50 mmol) *tert*-Butanol versetzt. Der Ansatz wird über 24 h auf 90°C erhitzt. Nach dem Abkühlen wird auf 150 ml einer Mischung aus Eis und gesättigter Ammoniumchloridlösung abgegossen und drei mal mit je 80 ml Dichlormethan ausgeschüttelt. Die vereinigten organischen Phasen werden über MgSO₄ getrocknet und das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer abgezogen. Der Rückstand wird durch Säulenchromatographie mit PE/EE 80/20 → 70/30 an Kieselgel gereinigt (R_f = 0.42; PE/EE 70/30). Man erhält 2.56 g (8.28 mmol, 83 %) farblose Kristallnadeln.

Schmp. 121-122°C; **¹H- NMR** (250 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 1.50 (s, 9H), 2.26 (s, 6H), 6.59 (t, J = 2.05 Hz, 1H), 6.68 (bs, 1H), 7.07 (d, J = 2.05 Hz, 2H); **¹³C- NMR** (63 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 21.1 (+, 2C), 28.3 (+, 3C), 81.1 (C_{quart}, 1C), 109.0 (+, 2C), 109.7 (+, 1C), 140.0 (C_{quart}, 1C), 151.3 (C_{quart}, 2C), 152.3 (C_{quart}, 1C), 169.0 (C_{quart}, 2C); **IR** (KBr): $\bar{\nu}$ (cm⁻¹) = 3382 (s), 3074 (w), 2982 (m), 2937 (w), 1763 (s), 1707 (s), 1602 (s), 1526 (s), 1430 (s), 1370 (s), 1237 (s), 1200 (s), 1161 (s), 1126 (s), 1029 (s), 899 (s), 704 (m); **MS** (EI-MS, 70eV): e/z (%) = 309 (17, M⁺), 253 (22), 211 (54), 169 (61), 167 (52), 125 (88), 57 (100); **C₁₅H₁₉NO₆** (309.3): ber. C 58.25 H 6.19 N 4.53, gef. C 58.27 H 6.00 N 4.31

Tert-butyl-3,5-dihydroxyphenylcarbamate (70)

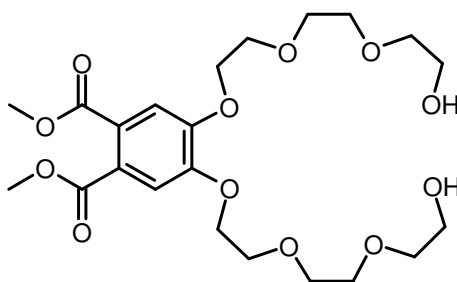


Verbindung **69** (619 mg, 2.00 mmol) wird in 20 ml MeOH gelöst und mit 0.6 ml 32 %iger Ammoniaklösung (10.0 mmol) versetzt. Der Ansatz wird 5 h bei Raumtemperatur gerührt, wobei sich die Lösung rötlich verfärbt. Das Lösungsmittel wird dann abrotiert und der Rückstand mit 20 ml Essigsäureethylester und 20 ml Acetatpuffer pH 4 versetzt. Die wässrige

Phase (pH 4) wird noch zwei mal mit je 30 ml Essigsäureethylester ausgeschüttelt. Die vereinigten organischen Phasen werden über MgSO_4 getrocknet und das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer abgezogen. Man erhält das Produkt in ausreichender Reinheit für die weitere Umsetzung. Aufreinigung kann durch Säulenchromatographie mit PE/EE 60/40 ($R_f = 0.25$) an Kieselgel oder Umkristallisation in Cyclohexan/ Chloroform 4/1 erfolgen. Man erhält (ohne weitere Aufreinigung) 449 mg farblosen Feststoff (1.99 mmol, 99 %).

Schmp.: 65-67°C; **^1H - NMR** (250 MHz, CD_3OD): δ [ppm] = 1.49 (s, 9H), 5.94 (t, $J = 2.18$ Hz, 1H), 6.42 (d, $J = 2.18$ Hz, 2H); **^{13}C - NMR** (63 MHz, CD_3OD): δ [ppm] = 28.7 (+, 3C), 80.7 (C_{quart} , 1C), 98.3 (+, 1C), 98.8 (+, 2C), 142.1 (C_{quart} , 1C), 155.2 (C_{quart} , 1C), 159.7 (C_{quart} , 2C); **IR** (KBr): $\bar{\nu}$ (cm^{-1}) = 3322 (bs), 2978 (m), 1699 (s), 1614 (s), 1557 (m), 1510 (m), 1453 (m), 1393 (m), 1369 (m), 1340 (m), 1251 (s), 1159 (s), 1079 (w), 1016 (w), 974 (w), 877 (w), 836 (w), 763 (w); **MS** (EI-MS, 70eV): e/z (%) = 225 (28, M^+), 169 (76), 152 (14), 137 (10), 125 (98), 84 (13), 69 (12), 57 (100); **HRMS** (EI-MS, 70eV): ber. Für $\text{C}_{11}\text{H}_{15}\text{NO}_4$: 225.1001, gef. 225.1004; **$\text{C}_{15}\text{H}_{19}\text{NO}_6 \cdot 2/3\text{H}_2\text{O}$** : ber.: C 55.69 H 6.94 N 5.90, gef.: 55.57 H 6.75 N 5.79

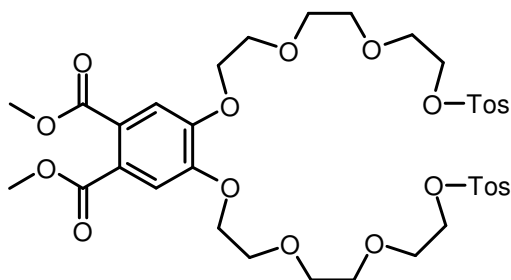
4,5-Bis-{2-[2-(2-hydroxy-ethoxy)-ethoxy]-ethoxy}-phthalsäuredimethylester (72)



Dimethyl-4,5-dihydroxyphthalat (6.79 g, 30.0 mmol) wird in 50 ml DMF gelöst und mit 9.12 g (66.0 mmol) K_2CO_3 versetzt. Danach werden 20.1 g (66 mmol) Triethylenglykolmonotosylat, gelöst in 50 ml DMF, zugegeben und über Nacht bei 60°C gerührt. Nach dem Abkühlen wird der Ansatz in 100 ml einer Mischung aus Eis und gesättigter Ammoniumchloridlösung gegeben. Die Mischung wird vier mal mit je 50 ml Dichlormethan ausgeschüttelt, die vereinigten organischen Phasen über MgSO_4 getrocknet und das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer abgezogen. Der Rückstand wird durch Säulenchromatographie mit $\text{Et}_2\text{O}/\text{EtOH}$ 60/40 \rightarrow 50/50 an Kieselgel gereinigt ($R_f = 0.27$, $\text{Et}_2\text{O}/\text{EtOH}$ 60/40). Man erhält 11.6 g (23.6 mmol, 79 %) eines leicht gelblichen Öls.

¹H- NMR (400 MHz, DMSO-d₆): δ [ppm] = 3.39 – 3.42 (m, 4H), 3.45 – 3.49 (m, 4H), 3.51 – 3.54 (m, 4H), 3.58 – 3.61 (m, 4H), 3.73 – 3.77 (m, 4H), 3.78 (s, 6H), 4.17 – 4.20 (m, 4H), 4.53 (bs, 2H), 7.28 (s, 2H); **¹³C- NMR** (100 MHz, DMSO-d₆): δ [ppm] = 52.4 (+, 2C), 60.2 (-, 2C), 68.7 (-, 2C), 68.8 (-, 2C), 69.8 (-, 2C), 70.0 (-, 2C), 72.3 (-, 2C), 113.2 (-, 2C), 124.7 (C_{quart}, 2C), 149.9 (C_{quart}, 2C), 167.0 (C_{quart}, 2C); **IR** (KBr): $\bar{\nu}$ (cm⁻¹) = 3422 (bs), 2923 (s), 2875 (s), 1720 (s), 1599 (m), 1520 (m), 1436 (m), 1351 (m), 1290 (s), 1200 (s), 1126 (s), 1063 (m), 977 (w), 945 (w), 887 (w), 782 (w); **MS** (CI-MS/ DCI, NH₃): e/z (%) = 508 (100, M⁺+NH₄⁺), 491 (3, MH⁺), 376 (13), 359 (16); **HR-MS** (CI-MS/ DCI, NH₃): ber. für C₂₂H₃₄O₁₂: 490.20503, gef. 490.20490

4,5-Bis-(2-{2-[2-(toluol-4-sulfonyloxy)-ethoxy]-ethoxy}-ethoxy)-phthalsäure-dimethylester (73)

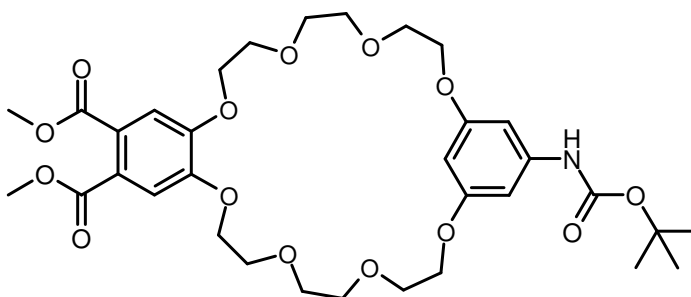


Verbindung **72** (1.47 g, 3.00 mmol) und Tosylchlorid (1.72 g, 9.00 mmol) werden in 20 ml THF unter Normalatmosphäre gelöst. Bei 0°C werden 1.18 g (21.0 mmol) KOH in 3 ml Wasser innerhalb einer Stunde zugetropft. Danach wird noch 2 h bei Raumtemperatur weitergerührt. Der Ansatz wird in 20 ml Wasser/ 60 ml Et₂O abgegossen und die wässrige Phase noch 3 mal mit je 20 ml Et₂O extrahiert. Man wäscht die vereinigten organischen Phasen mit je 20 ml gesättigter Ammoniumchloridlösung und Wasser, trocknet über MgSO₄ und zieht das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer ab. Es bleiben 2.28 g (2.85 mmol, 95 %) eines farblosen zähflüssigen Öls zurück. Das Produkt hat bereits eine für weitere Umsetzungen nötige Reinheit, kann jedoch durch Säulenchromatographie mit PE/EE 15/85 an Kieselgel weiter aufgereinigt werden. (R_f = 0.59)

¹H- NMR (250 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 2.43 (s, 6H), 3.57 – 3.61 (m, 4H), 3.65 – 3.70 (m, 8H), 3.83 – 3.87 (m, 10H), 4.13 – 4.21 (m, 8H), 7.22 (s, 2H), 7.57 (d, J = 8.12 Hz, 4H), 7.78 (d, J = 8.12 Hz, 4H); **¹³C- NMR** (63 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 21.6 (+, 2C), 52.5 (+, 2C), 68.7

(-, 2C), 68.8 (-, 2C), 69.2 (-, 2C), 69.5 (-, 2C), 70.7 (-, 2C), 70.8 (-, 2C), 113.8 (+, 2C), 125.4 (C_{quart}, 2C), 127.9 (+, 4C), 129.8 (+, 4C), 133.0 (C_{quart}, 2C), 144.8 (C_{quart}, 2C), 150.4 (C_{quart}, 2C), 167.9 (C_{quart}, 2C); **IR** (NaCl): $\bar{\nu}$ (cm⁻¹) = 2951 (m), 2877 (m), 1722 (s), 1598 (m), 1520 (s), 1436 (m), 1354 (s), 1290 (s), 1177 (s), 1128 (s), 1014 (m), 923 (m), 818 (m), 779 (m); **MS** (CI-MS/ DCI, NH₃): e/z (%) = 816 (75, M⁺ + NH₄⁺), 728 (36), 644 (26), 618 (22), 530 (26), 513 (26), 376 (37), 341 (21), 327 (29), 322 (24), 315 (28), 304 (97), 278 (57), 271 (29), 253 (100); **HR-MS** (CI-MS/ DCI, NH₃): ber. für C₃₆H₄₆S₂O₁₆: 798.22273, gef. 798.22280; C₃₆H₄₆O₁₆S₂ (798.9): ber. C 54.13 H 5.80 S 8.03, gef. 54.04 H 5.70 S 7.99

30-tert-Butoxycarbonylamino-2,5,8,11,18,21,24,27-octaoxa-tricyclo[26.3.1.0^{12,17}]-dotriaconta-1(31),12(17),13,15,28(32),29-hexaen-14,15-dicarbonsäuredimethylester (74)

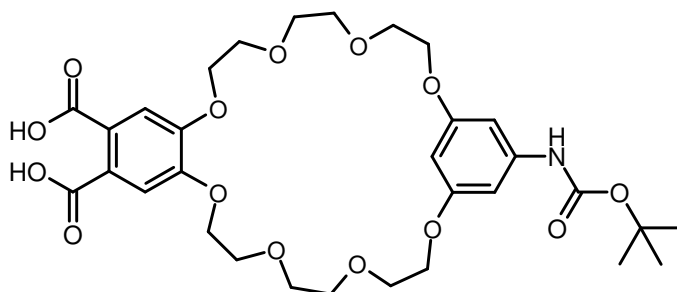


Verbindungen **70** (1.07 mmol, 241 mg) und **73** (1.07 mmol, 855 mg) werden zusammen in 40 ml DMF gelöst und über 48 h zu 2.88 g CsCO₃ (15.0 mmol) in 100 ml DMF bei 70°C gegeben. Nach vollendeter Zugabe wird noch weiter 48 h gerührt. Die abgekühlte Suspension wird in 100 ml kalte NH₄Cl_(sat) Lösung und 100 ml Essigsäureethylester gegeben. Die wässrige Phase wird noch drei mal mit je 100 ml Essigsäureethylester ausgeschüttelt. Die vereinigten organischen Phasen werden mit 100 ml Wasser gewaschen und dann über MgSO₄ getrocknet. Das Lösungsmittel wird am Rotationsverdampfer abgezogen. Das Rohprodukt wird durch Säulenchromatographie mit PE/EE 20/80 an Kieselgel aufgereinigt (R_f = 0.38). Man erhält 236 mg (0.347 mmol, 33 %) eines farblosen Feststoffs.

¹H- NMR (250 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 1.50 (s, 9H), 3.67 – 3.74 (m, 8H), 3.77 – 3.81 (m, 4H), 3.85 – 3.88 (m, 10H), 4.08 – 4.12 (m, 4H), 4.14 – 4.20 (m, 4H), 6.34 (t, J = 2.13 Hz, 1H), 6.55 (bs, 1H), 6.58 (d, J = 2.08 Hz, 2H), 7.21 (s, 2H); **¹³C- NMR** (63 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 28.3 (+, 3C), 52.6 (+, 2C), 68.0 (-, 2C), 69.0 (-, 2C), 69.6 (-, 2C), 69.8 (-, 2C), 71.0 (-, 2C), 71.1 (-, 2C), 80.5 (C_{quart}, 1C), 97.7 (+, 1C), 98.2 (+, 2C), 114.3 (+, 2C), 125.45 (C_{quart}, 2C),

140.0 (C_{quart}, 2C), 150.6 (C_{quart}, 2C), 152.6 (C_{quart}, 1C), 160.2 (C_{quart}, 2C), 167.7 (C_{quart}, 2C); **IR** (KBr): $\bar{\nu}$ (cm⁻¹) = 3350 (w), 3090 (w), 2950 (m), 2876 (m), 1725 (s), 1603 (s), 1544 (m), 1435 (m), 1351 (m), 1291 (s), 1251 (s), 1163 (s), 1129 (s), 1051 (m), 981 (m), 946 (w), 877 (w), 843 (w), 783 (w); **MS** (EI-MS, 70 eV): e/z (%) = 679 (8, M⁺), 579 (100), 516 (17), 391 (10), 252 (12), 240 (23), 221 (44), 207 (10), 195 (21); **HR-MS** (EI-MS, 70 eV): ber. für C₃₃H₄₅NO₁₄: 679.28400, gef. 679.28370

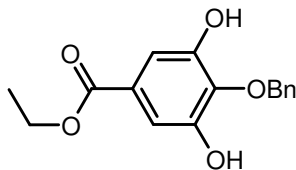
30-tert-Butoxycarbonylamino-2,5,8,11,18,21,24,27-octaoxa-tricyclo[26.3.1.0^{12,17}]-dotriaconta-1(31),12(17),13,15,28(32),29-hexaen-14,15-dicarbonsäure (75)



Verbindung **74** (170 mg, 0.25 mmol) wird in 10 ml einer 1/1 Mischung von THF und MeOH gelöst und mit 1.5 ml einer 2 M LiOH-Lösung (3.00 mmol) versetzt. Der Ansatz wird über Nacht bei Raumtemperatur gerührt und dann in 20 ml einer 5 %igen KHSO₄-Lösung gegossen. Die wässrige Phase wird vier mal mit je 20 ml Essigsäureethylester ausgeschüttelt. Die vereinigten organischen Phasen werden über MgSO₄ getrocknet und das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer abgezogen. Man erhält 161 mg (0.248 mmol, 99 %) eines gelblichen Feststoffes.

¹H- NMR (250 MHz, CD₃CN): δ [ppm] = 1.46 (s, 9H), 3.62 (s, 8H), 3.71 – 3.78 (m, 8H), 4.05 – 4.08 (m, 4H), 4.15 – 4.18 (m, 4H), 6.26 (t, J = 2.2 Hz, 1H), 6.60 (d, J = 2.2 Hz, 2H), 7.09 (bs, 2H), 7.35 (s, 2H), 7.55 (s, 1H); **¹³C- NMR** (63 MHz, CD₃CN): δ [ppm] = 28.6 (+, 3C), 68.8 (-, 2C), 69.6 (-, 2C), 70.1 (-, 2C), 70.4 (-, 2C), 71.5 (-, 4C), 80.8 (C_{quart}, 1C), 97.8 (+, 1C), 98.9 (+, 2C), 115.3 (+, 2C), 126.1 (C_{quart}, 2C), 142.0 (C_{quart}, 1C), 151.3 (C_{quart}, 2C), 153.9 (C_{quart}, 1C), 161.2 (C_{quart}, 2C), 169.3 (C_{quart}, 2C); **MS** (FDMS, CH₂Cl₂) : e/z (%) = 592 (100, M⁺)

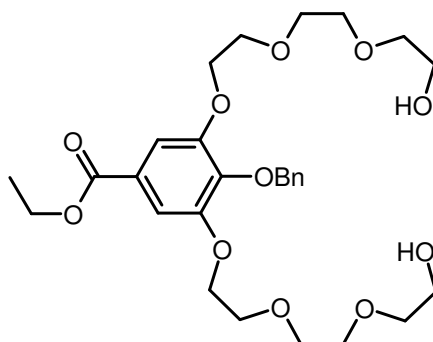
4-Benzoyloxy-3,5-dihydroxy-benzoessäureethylester (77)



Gallussäureethylester (19.8 g, 100 mmol) wird zusammen mit 17.3 ml (19.0 g, 150 mmol) Benzylchlorid in 50 ml Ethanol gelöst und mit 5.60 g (100 mmol) KOH in 20 ml H₂O versetzt. Anschließend wird 5 h zum Sieden erhitzt. Nach dem Abkühlen wird mit 50 ml H₂O verdünnt, 3 mal mit je 50 ml Et₂O ausgeschüttelt, die vereinigten organischen Phasen mit gesättigter Natriumhydrogencarbonatlösung gewaschen und über MgSO₄ getrocknet. Nach dem Abrotieren des Lösungsmittels wird der Rückstand durch Säulenchromatographie an Kieselgel mit einem Laufmittelgradient von PE/EE 90/10 → 70/30 (R_f (70/30) = 0.57) aufgereinigt. Man erhält 12.1 g (42.0 mmol, 42 %) farblosen Feststoff.

Schmp.: 98 – 99°C; **¹H-NMR** (300 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 1.37 (t, J = 7.1 Hz, 3 H), 4.34 (q, J = 7.1 Hz, 2 H), 5.16 (s, 2 H), 6.09 (s, 2 H), 7.25 (s, 2 H), 7.36 – 7.39 (m, 5 H); **¹³C-NMR** (75 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 14.2 (+, 1 C), 61.4 (-, 1 C), 75.5 (-, 1 C), 109.7 (+, 2 C), 126.1 (C_{quart}, 1 C), 128.7 (+, 2 C), 128.9 (+, 2 C), 129.0 (+, 1 C), 136.5 (C_{quart}, 1 C), 137.3 (C_{quart}, 1 C), 149.0 (C_{quart}, 2 C), 166.8 (C_{quart}, 1 C); **IR** (KBr): $\bar{\nu}$ (cm⁻¹) = 3514 (m), 3237 (m), 2976 (w), 1678 (s), 1602 (s), 1529 (w), 1455 (m), 1370 (s), 1357 (s), 1380 (m), 1369 (m), 1175 (m), 1061 (m), 1020 (m), 966 (m), 870 (m), 756 (m); **MS** (EI, 70 eV) : e/z (%) = 288 (4, M⁺), 243 (2, M⁺-OEt), 91 (100, C₇H₇⁺); **C₁₆H₁₆O₅** (288): ber. C 66.66 H 5.59, gef. C 66.58 H 5.47

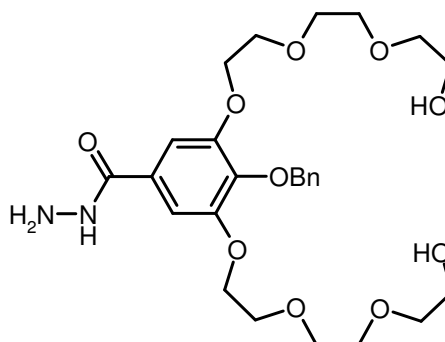
4-Benzyloxy-3,5-bis-[2-[2-(2-hydroxy-ethoxy)-ethoxy]-ethoxy]-benzoessäureethylester (78)



Verbindung **77** (1.44 g, 5 mmol) wird in 30 ml gelöst, mit 4.14 g K_2CO_3 (30.0 mmol) versetzt und 30 min bei 60°C gerührt. Anschließend werden 4.56 g Triethylenglykolmonotosylat (15.0 mmol) zugegeben und über Nacht bei 60°C weitergerührt. Nach dem Abkühlen wird der Ansatz in eine Mischung aus 50 ml gesättigter NH_4Cl Lösung und 50 ml Dichlormethan gegeben und nach dem Abtrennen der organischen Phase noch 3 mal mit je 30 ml Dichlormethan ausgeschüttelt. Die vereinigten organischen Phasen werden mit 50 ml H_2O gewaschen, über MgSO_4 getrocknet und das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer abgezogen. Das Rohprodukt wird durch Säulenchromatographie an Kieselgel mit einem Laufmittelgradient von Essigsäureethylester zu Essigsäureethylester/ Ethanol 9/1 aufgereinigt (R_f (EE/EtOH 9/1) = 0.39). Man erhält 1.29 g (2.33 mmol, 47 %) farbloses Öl.

^1H -NMR (300 MHz, CDCl_3): δ [ppm] = 1.37 (t, J = 7.1 Hz, 3 H), 2.47 (s, 2 H), 3.54 – 3.57 (m, 4 H), 3.61 – 3.72 (m, 12 H), 3.85 (t, J = 4.8 Hz, 4 H), 4.18 (t, J = 4.8 Hz, 4 H), 4.34 (q, J = 7.1 Hz, 2 H), 5.11 (s, 2 H), 7.27 – 7.33 (m, 3 H), 7.29 (s, 2 H), 7.48 – 7.51 (m, 2 H); **^{13}C -NMR** (75 MHz, CDCl_3): δ [ppm] = 14.4 (+, 1 C), 61.1 (-, 1 C), 61.7 (-, 2 C), 68.8 (-, 2 C), 69.6 (-, 2 C), 70.4 (-, 2 C), 70.9 (-, 2 C), 72.5 (-, 2 C), 74.9 (-, 1 C), 108.7 (+, 2 C), 125.6 (C_{quart} , 1 C), 127.9 (+, 1 C), 128.1 (+, 2 C), 128.4 (+, 2 C), 137.7 (C_{quart} , 1 C), 141.9 (C_{quart} , 1 C), 152.5 (C_{quart} , 2 C), 166.1 (C_{quart} , 1 C); **IR** (KBr) : $\bar{\nu}(\text{cm}^{-1})$ = 3420 (bm), 3063 (w), 3036 (w), 2935 (s), 2895 (s), 1711 (s), 1670 (s), 1588 (m), 1503 (m), 1455 (m), 1430 (m), 1387 (m), 1369 (m), 1334 (s), 1218 (s), 1121 (s), 1031 (m), 765 (w), 701 (w); **MS** (PI-CIMS, NH_3) : e/z (%) = 570 (100, $\text{M}+\text{NH}_4^+$), 553 (3, MH^+), 507 (17); **HRMS** (EI, 70 eV): ber. für $\text{C}_{28}\text{H}_{40}\text{O}_{11}$: 552.2572, gef.: 552.2572

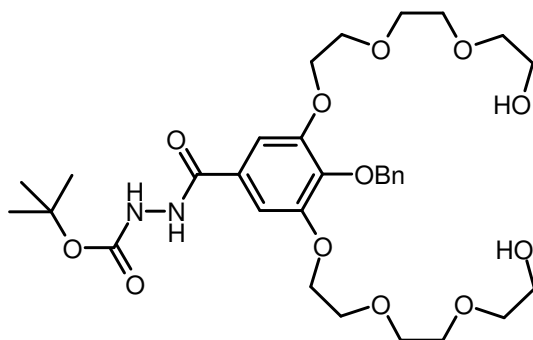
4-Benzyloxy-3,5-bis-{2-[2-(2-hydroxy-ethoxy)-ethoxy]-ethoxy}-benzoesäurehydrazid (79)



Verbindung **78** (520 mg, 0.94 mmol) wird in 20 ml EtOH gelöst und mit 2 ml 80 %iger Hydrazinhydratlösung versetzt. Nach 24 h Reflux kochen wird das Lösungsmittel abrotiert und das zurückbleibende Öl 12 h im Hochvakuum getrocknet. Man erhält 420 mg (0.78 mmol, 83 %) eines farblosen Öls.

¹H- NMR (300 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 3.37 – 3.41 (m, 4 H), 3.44 – 3.48 (m, 4 H), 3.51 – 3.55 (m, 4 H), 3.60 – 3.64 (m, 4 H), 3.78 (t, J = 4.5 Hz, 4 H), 4.13 (t, J = 4.7 Hz, 4 H), 5.01 (s, 2 H), 7.15 (s, 2 H), 7.29 – 7.38 (m, 3 H), 7.46 – 7.51 (m, 2 H); **¹³C- NMR** (75 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 60.0 (-, 2 C), 68.0 (-, 2 C), 68.8 (-, 2 C), 69.7 (-, 2 C), 69.9 (-, 2 C), 72.2 (-, 2 C), 73.7 (-, 1 C), 105.3 (+, 2 C), 127.7 (+, 1 C), 127.9 (+, 2 C), 128.1 (+, 2 C), 128.2 (C_{quart}, 1 C), 137.6 (C_{quart}, 1 C), 138.8 (C_{quart}, 1 C), 151.9 (C_{quart}, 2 C), 165.1 (C_{quart}, 1 C); **IR** (KBr): $\bar{\nu}$ (cm⁻¹) = 3306 (bm), 2930 (m), 2875 (m), 1652 (m), 1600 (m), 1582 (s), 1493 (s), 1445 (m), 1426 (m), 1342 (s), 1238 (m), 1120 (s), 942 (w), 736 (w); **MS** (ESI, CH₂Cl₂/MeOH + 10 mmol/l NH₄Ac) : e/z (%) = 539 (100, MH⁺), 507 (12); **HRMS** (EI-MS, 70 eV): ber. für C₂₆H₃₈N₂O₁₀: 238.2526, gef.: 238.2532

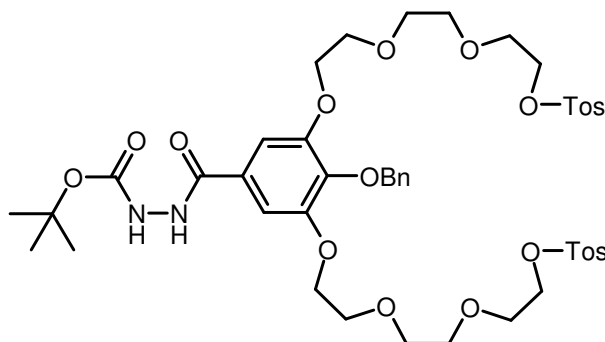
N'-(4-Benzoyloxy-3,5-bis-{2-[2-(2-hydroxy-ethoxy)-ethoxy]-ethoxy}-benzoyl)-hydrazincarbonsäure-tert-butylester (80)



Verbindung **79** (1.17 g, 2.17 mmol) wird in 5 ml THF vorgelegt und unter Eisbadkühlung mit 474 mg (2.17 mmol) *Boc*-Anhydrid versetzt. Man lässt den Ansatz über Nacht rühren und dabei auftauen. Das Lösungsmittel wird danach abrotiert und der Rückstand durch Säulenchromatographie an Kieselgel mit EE/EtOH 9/1 als Laufmittel aufgereinigt ($R_f = 0.33$). Man erhält 900 mg (1.41 mmol, 65 %) eines farblosen Öls.

^1H -NMR (300 MHz, CDCl_3): δ [ppm] = 1.39 (s, 9 H), 3.52 – 3.53 (m, 4 H), 3.57 – 3.59 (m, 12 H), 3.69 (t, $J = 4.3$ Hz, 4 H), 4.01 (t, $J = 4.3$ Hz, 4 H), 7.02 (s, 2 H), 7.14 (bs, 1 H), 7.19 – 7.26 (m, 3 H), 7.38 – 7.40 (m, 2 H), 9.43 (bs, 1 H); **^{13}C -NMR** (75 MHz, CDCl_3): δ [ppm] = 28.1 (+, 3 C), 61.5 (-, 2 C), 68.5 (-, 2 C), 69.7 (-, 2 C), 70.3 (-, 2 C), 70.6 (-, 2 C), 72.5 (-, 2 C), 74.7 (-, 1 C), 81.6 (C_{quart} , 1 C), 106.8 (+, 2 C), 126.8 (C_{quart} , 1 C), 127.8 (+, 1 C), 128.1 (+, 2 C), 128.4 (+, 2 C), 137.8 (C_{quart} , 1 C), 140.7 (C_{quart} , 1 C), 152.4 (C_{quart} , 2 C), 156.6 (C_{quart} , 1 C), 166.6 (C_{quart} , 1 C); **IR** (KBr): $\bar{\nu}$ (cm^{-1}) = 3418 (bm), 3287 (bm), 2933 (m), 2876 (m), 1717 (s), 1662 (m), 1588 (m), 1497 (s), 1455 (m), 1428 (m), 1369 (m), 1323 (m), 1278 (m), 1244 (s), 1162 (s), 1121 (s), 984 (m), 947 (m), 754 (m), 700 (m); **MS** (ESI, $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH} + 10$ mmol/l NH_4Ac) : e/z (%) = 661 (12, $\text{M} + \text{Na}^+$), 656 (15, $\text{M} + \text{NH}_4^+$), 639 (100, MH^+), 583 (13, $\text{MH}^+ - \text{C}_4\text{H}_8$), 539 (18, $\text{MH}^+ - \text{C}_4\text{H}_8 - \text{CO}_2$); **$\text{C}_{31}\text{H}_{46}\text{N}_2\text{O}_{12} \cdot 0.5 \text{H}_2\text{O}$** : ber.: C 57.49 H 7.31 N 4.32, gef.: C 57.50 H 7.12 N 4.39

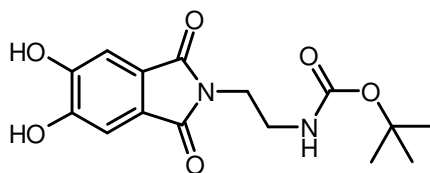
N'-(4-Benzoyloxy-3,5-bis-{2-[2-(2-(toluol-4-sulfonyloxy)-ethoxy)-ethoxy]-ethoxy}-benzoyl)-hydrazincarbonsäure-tert-butylester 81



Verbindung **80** (880 mg, 1.38 mmol) wird in 8 ml Pyridin gelöst und innerhalb von 4 h zu 782 mg (4.10 mmol) Tosylchlorid in 10 ml Pyridin bei 0°C zugegeben. Nach beendeter Zugabe wird noch 18 h bei Raumtemperatur weitergerührt. Der Ansatz wird dann in 50 ml Eiswasser gegossen, mit 5 %iger KHSO₄ Lösung auf pH 6 gebracht und mit 3 mal 30 ml Dichlormethan ausgeschüttelt. Die vereinigten organischen Phasen werden mit 30 ml H₂O gewaschen, über MgSO₄ getrocknet und das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer abgezogen. Der Rückstand wird durch Säulenchromatographie an Kieselgel mit PE/EE 30/70 (*R_f* = 0.29) aufgereinigt. Man erhält 325 mg (0.34 mmol, 25 %) öliges Produkt.

¹H- NMR (300 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 1.41 (s, 9 H, *Boc*: CH₃), 2.34 (s, 6 H, *Tos*: CH₃), 3.45 – 3.48 (m, 4 H), 3.52 – 3.57 (m, 8 H), 3.68 – 3.71 (m, 4 H), 4.01 – 4.04 (m, 8 H), 4.95 (s, 2 H, O-CH₂-Ph), 6.69 (bs, 1 H, *NH*), 7.01 (s, 2 H, 3,4,5-Trihydroxybenzoesäure: CH), 7.21 – 7.27 (m, 7 H), 7.37 – 7.41 (m, 2 H), 7.69 (d, *J* = 8.5 Hz, 4 H, *Tos*: 3,5 CH), 8.91 (bs, 1 H, *NH*); **¹³C- NMR** (75 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 21.6 (+, 2 C, *Tos*: CH₃), 28.1 (+, 3 C, *Boc*: CH₃), 68.6 (-, 4 C), 69.3 (-, 2 C), 69.7 (-, 2 C), 70.6 (-, 2 C), 70.7 (-, 2 C), 74.7 (-, 1 C, O-CH₂-Ph), 81.8 (C_{quart}, 1 C, *Boc*: O=C-C(Me)₃), 106.5 (+, 2 C, 3,4,5-Trihydroxybenzoesäure: CH), 126.7 (C_{quart}, 1 C), 127.9 (+, 1 C, Bn: 4 CH), 127.9 (+, 4 C, *Tos*: 2,6 CH), 126.1 (+, 2C), 128.3 (+, 2 C), 129.8 (+, 4 C, *Tos*: 3,5 CH), 132.8 (C_{quart}, 2 C), 137.8 (C_{quart}, 1 C), 141.0 (C_{quart}, 1 C), 144.8 (C_{quart}, 2 C), 152.6 (C_{quart}, 2 C), 156.3 (C_{quart}, 1 C), 166.3 (C_{quart}, 1 C); **IR** (KBr): (cm⁻¹) = 3290 (m), 2924 (m), 2874 (s), 1721 (s), 1670 (s), 1587 (s), 1495 (s), 1353 (s), 1242 (m), 1173 (s), 1101 (s), 1015 (m), 922 (m), 816 (m); **MS** (ESI, CH₂Cl₂/MeOH + 10 mmol/l NH₄Ac) : *e/z* (%) = 964 (23, M + NH₄⁺), 947 (14, MH⁺), 891 (16, MH⁺ - C₄H₈), 847 (100, MH⁺ - C₄H₈ - CO₂), 815 (79), 725 (15)

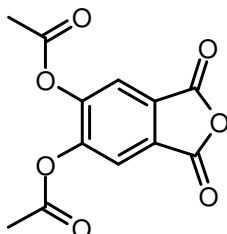
[2-(5,6-Dihydroxy-1,3-dioxo-1,3-dihydro-isoindol-2-yl)-ethyl]-carbaminsäure-tert-butylester (82)



Verbindung **85** (247 mg, 0.61 mmol) wird in 18 ml Methanol suspendiert und mit 195 mg (1.82 mmol) Na_2CO_3 versetzt. Während des 4-stündigen Rührens bei Raumtemperatur wird die Lösung zunächst gelb und schließlich intensiv orange. Anschließend werden 11.5 ml 5 %ige KHSO_4 Lösung zugegeben. Der Ansatz entfärbt sich hierbei fast vollständig. Das Methanol wird am Rotationsverdampfer abrotiert und der wässrige Rückstand 3 mal mit je 30 ml Essigsäureethylester ausgeschüttelt. Die vereinigten organischen Phasen werden über MgSO_4 getrocknet und das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer abgezogen. Man erhält 194 mg (0.60 mmol, 99 %) blass gelbes Produkt.

Schmp.: 186°C (Zers.); **^1H -NMR** (300 MHz, Aceton- d_6): δ [ppm] = 1.30 (s, 9 H), 3.27 – 3.32 (m, 2 H), 3.64 (t, J = 5.7 Hz, 2 H), 6.10 (bs, 1 H), 7.18 (s, 2 H); **^{13}C -NMR** (75 MHz, Aceton- d_6): δ [ppm] = 28.6 (+, 3 C), 39.7 (-, 1 C), 39.8 (-, 1 C), 78.7 (C_{quart} , 1 C), 110.3 (+, 2 C), 126.0 (C_{quart} , 2 C), 151.1 (C_{quart} , 2 C), 156.8 (C_{quart} , 1 C), 168.9 (C_{quart} , 2 C); **IR** (KBr): $\bar{\nu}$ (cm^{-1}) = 3368 (s), 3253 (bs), 2978 (m), 2864 (m), 2738 (m), 2651 (m), 1761 (s), 1689 (s), 1602 (s), 1532 (s), 1441 (s), 1398 (s), 1322 (s), 1255 (s), 1157 (s), 1015 (m), 870 (s), 816 (s), 750 (s); **MS** (CI-MS, NH_3): e/z (%) = 340 (22, $\text{M} + \text{NH}_4^+$), 284 (100, $\text{M} - \text{C}_4\text{H}_8 + \text{NH}_4^+$), 267 (12), 250 (12), 223 (27, $\text{MH}^+ - \text{C}_4\text{H}_8 - \text{CO}_2$), 180 (12)

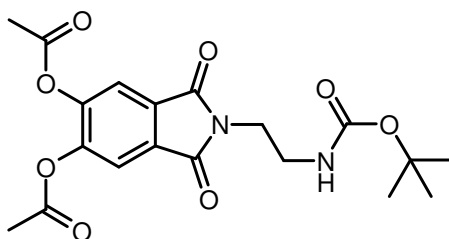
Essigsäure-6-acetoxy-1,3-dioxo-1,3-dihydro-isobenzofuran-5-yl-ester (84)



In einem Kolben werden 30 ml Acetanhydrid, 30 ml Acetonitril und 1.8 ml (1.96 g, 25 mmol) Acetylchlorid vorgelegt. Die Mischung wird mit 0.2 ml (160 mg, 5 mmol) Methanol versetzt und 15 min bei Raumtemperatur gerührt. Dann werden 1.10 g (5.56 mmol) 4,5-Dihydroxyphthalsäure zugegeben und der Ansatz über Nacht bei 60°C gerührt. Das Lösungsmittel wird anschließend am Rotationsverdampfer abdestilliert, der Rückstand mit 10 ml Acetonitril aufgeschlämmt und dieses ebenfalls abrotiert. Man erhält das Produkt quantitativ als weißen Feststoff der direkt weiter zu **85** umgesetzt wird.

¹H- NMR (300 MHz, DMSO-d₆): δ [ppm] = 2.36 (s, 6H), 8.11 (s, 2H); **¹³C- NMR** (75 MHz, DMSO-d₆): δ [ppm] = 20.3 (+, 2C), 120.9 (+, 2C), 129.5 (C_{quart}, 2C), 147.9 (C_{quart}, 2C), 161.8 (C_{quart}, 2C), 167.6 (C_{quart}, 2C); **MS** (PI-DCIMS, NH₃) : e/z (%) = 282 (100, M+NH₄⁺)

Essigsäure-6-acetoxy-2-(2-tert-butoxycarbonylamino-ethyl)-1,3-dioxo-2,3-dihydro-1H-isoindol-5-yl-ester (85)

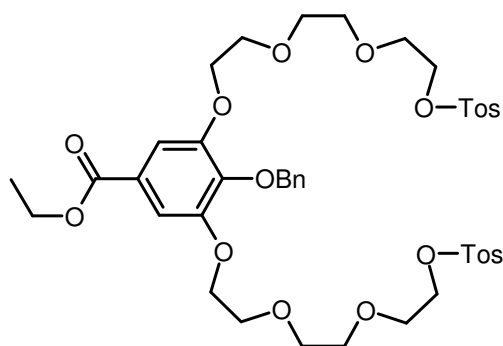


Verbindung **84** (1.15 g, 4.35 mmol) wird in 100 ml Benzol vorgelegt und innerhalb von 15 min bei Raumtemperatur mit *N*-Boc-Ethylendiamin (766 mg, 4.78 mmol) in 20 ml Benzol versetzt. Der Ansatz wird über Nacht bei Raumtemperatur gerührt, dabei fällt ein farbloser Niederschlag aus. Man gibt 990 mg (4.4 mmol) ZnBr₂ zu und erhitzt zum Sieden. Innerhalb von 15 min werden dann 1.37 ml (1065 mg, 6.60 mmol) HMDS in 15 ml Benzol zugetropft. Nach 1 h Reflux und Abkühlen auf Raumtemperatur wird der Ansatz mit 200 ml 5 %iger KHSO₄ Lösung und 50 ml Essigsäureethylester versetzt. Die wässrige Phase wird noch 2 mal

mit je 50 ml Essigsäureethylester ausgeschüttelt, die vereinigten organischen Phasen mit 100 ml gesättigter NaHCO₃ Lösung gewaschen und über MgSO₄ getrocknet. Der Rückstand wird durch Säulenchromatographie an Kieselgel mit PE/EE 6/4 als Laufmittelgemisch aufgereinigt ($R_f = 0.53$). Man erhält 425 mg (1.05 mmol, 24 %) eines farblosen Feststoffes.

Schmp.: 158 – 160°C; **¹H-NMR** (300 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 1.34 (s, 9 H), 2.33 (s, 6 H), 3.40 (dd, $J = 5.2$, $J = 5.5$, 2 H), 3.80 (t, $J = 5.5$ Hz, 2 H), 4.83 (bs, 1 H), 7.69 (s, 2 H); **¹³C-NMR** (75 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 28.2 (+, 3 C), 20.6 (+, 2 C), 38.3 (-, 1 C), 39.2 (-, 1 C), 79.5 (C_{quart}, 1 C), 119.2 (+, 2 C), 130.1 (C_{quart}, 2 C), 146.7 (C_{quart}, 2 C), 155.9 (C_{quart}, 1 C), 166.8 (C_{quart}, 2 C), 167.4 (C_{quart}, 2 C); **IR** (KBr): $\bar{\nu}$ (cm⁻¹) = 3369 (m), 3061 (w), 2973 (m), 1784 (s), 1717 (s), 1689 (s), 1620 (m), 1529 (s), 1432 (s), 1398 (s), 1369 (s), 1269 (s), 1208 (s), 1167 (s), 1013 (s), 1038 (s), 976 (s), 926 (s), 862 (s), 796 (s), 739 (m); **MS** (CI-MS, NH₃): m/z (%) = 424 (10, M + NH₄⁺), 368 (100, M – C₄H₈ + NH₄⁺), 307 (20, MH⁺ – C₄H₈ – CO₂);

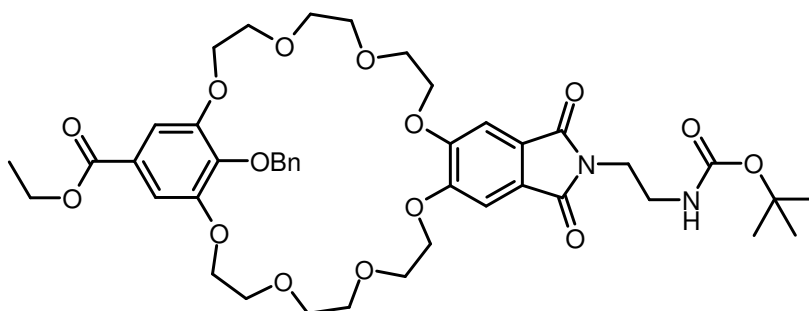
4-Benzoyloxy-3,5-bis-{2-[2-(2-(toluol-4-sulfonyloxy)-ethoxy)-ethoxy]-ethoxy}-benzoesäureethylester (86)



Verbindung **80** (2580 mg, 4.67 mmol) wird zusammen mit 2.67 g (14.0 mmol) Tosylchlorid in 30 ml THF gelöst. Unter Eisbadkühlung werden dann 1.84 g (32.7 mmol) KOH in 5 ml Wasser innerhalb von 1 h zugetropft. Der Ansatz wird noch 2 h bei Raumtemperatur gerührt und dann in eine Mischung aus 40 ml Wasser und 40 ml Et₂O gegossen. Die wässrige Phase wird noch 3 mal mit je 40 ml Et₂O ausgeschüttelt, die vereinigten organischen Phasen über MgSO₄ getrocknet und das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer abgezogen. Der Rückstand wird durch Säulenchromatographie an Kieselgel mit PE/EE 5/5 als Laufmittel aufgereinigt ($R_f = 0.32$). Man erhält 2.01 g (2.33 mmol, 50 %) farbloses Öl.

¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃): 1.37 (t, *J* = 7.1 Hz, 3 H), 2.41 (s, 6 H), 3.53 – 3.56 (m, 4 H), 3.61 – 3.65 (m, 8 H), 3.80 – 3.83 (m, 4 H), 4.10 (t, *J* = 4.8 Hz, 4 H), 4.14 – 4.17 (m, 4 H), 4.34 (q, *J* = 7.1 Hz, 2 H), 5.08 (s, 2 H), 7.27 – 7.32 (m, 3 H), 7.28 (s, 2 H), 7.30 (d, *J* = 8.2 Hz, 4 H), 7.45 – 7.48 (m, 2 H), 7.76 (d, *J* = 8.2 Hz, 4 H); **¹³C-NMR** (75 MHz, CDCl₃): 14.4 (+, 1 C), 21.6 (+, 2 C), 61.1 (-, 1 C), 68.7 (-, 2 C), 68.7 (-, 2 C), 69.2 (-, 2 C), 69.7 (-, 2 C), 70.8 (-, 4 C), 74.8 (-, 1 C), 108.6 (+, 2 C), 125.6 (C_{quart}, 1 C), 127.9 (+, 1 C), 128.0 (+, 4 C), 128.2 (+, 2 C), 128.3 (+, 2 C), 129.8 (+, 4 C), 132.9 (C_{quart}, 2 C), 137.7 (C_{quart}, 1 C), 141.9 (C_{quart}, 1 C), 144.8 (C_{quart}, 2 C), 152.5 (C_{quart}, 2 C), 166.1 (C_{quart}, 1 C); **IR** (KBr): (cm⁻¹) = 2928 (m), 2876 (m), 1713 (s), 1589 (m), 1497 (m), 1295 (m), 1429 (s), 1359 (s), 1333 (s), 1216 (s), 1177 (s), 1117 (s), 1020 (m), 923 (m), 816 (m); **MS** (ESI-MS, CH₂Cl₂/MeOH + 10 mmol/l NH₄Oac): *m/z* (%) = 878 (100, M + NH₄⁺); **C₄₂H₅₂O₁₅S₂** (861): ber. C 58.59 H 6.09 S 7.45, gef. C 58.45 H 5.71 S 7.22

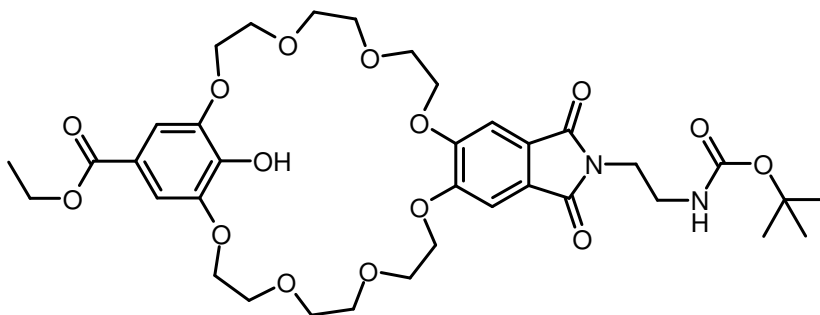
(1-(1,3-(2-Benzyloxy-5-(tert-butoxycarbonyl)amino-benzo)-14-(4,5-(N-(2-tert-butoxycarbonylamino-ethyl)-phthalimido)-25-krone-8 (87)



Verbindung **82** (224 mg, 0.70 mmol) wird in 5 ml DMF gelöst, mit 202 mg (1.46 mmol) K₂CO₃ versetzt und 20 min bei 70 °C gerührt. Anschließend werden 570 mg (0.66 mmol) **86** in 10 ml DMF zugegeben und über Nacht bei dieser Temperatur gerührt. Nach dem Abkühlen wird in 20 ml gesättigte NH₄Cl Lösung abgegossen und 3 mal mit je 20 ml Essigsäureethylester ausgeschüttelt. Die vereinigten organischen Phasen werden mit 20 ml H₂O gewaschen, über MgSO₄ getrocknet und das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer abgezogen. Der Rückstand wird durch Säulenchromatographie an Kieselgel mit Essigsäureethylester als Laufmittel aufgereinigt (R_f = 0.73). Man erhält 157 mg (0.19 mmol, 28 %) Produkt als farblosen Feststoff.

Schmp.: 110 – 112°C; **¹H-NMR** (300 MHz, CDCl₃): 1.35 (s, 9 H), 1.38 (t, *J* = 7.0 Hz, 3 H), 3.34 – 3.39 (m, 2 H), 3.54 – 3.57 (m, 4 H), 3.62 – 3.65 (m, 2 H), 3.69 – 3.76 (m, 8 H), 3.84 – 3.86 (m, 4 H), 4.11 (t, *J* = 5.4 Hz, 4 H), 4.17 – 4.20 (m, 4 H), 4.34 (q, *J* = 7.1 Hz, 2 H), 4.94 (t, *J* = 5.2 Hz, 1 H), 5.07 (s, 2 H), 7.18 – 7.31 (m, 7 H), 7.45 – 7.53 (m, 2 H); **¹³C-NMR** (75 MHz, CDCl₃): 14.4 (+, 1 C), 28.3 (+, 3 C), 37.8 (-, 1 C), 39.9 (-, 1 C), 61.1 (-, 1 C), 69.0 (-, 2 C), 69.4 (-, 2 C), 69.5 (-, 2 C), 69.6 (-, 2 C), 71.1 (-, 2 C), 71.5 (-, 2 C), 74.3 (-, 1 C), 79.3 (C_{quart}, 1 C), 107.3 (+, 2 C), 108.2 (+, 2 C), 125.2 (C_{quart}, 2 C), 125.3 (C_{quart}, 1 C), 127.5 (+, 1 C), 128.0 (+, 2 C), 138.1 (C_{quart}, 1 C), 142.0 (C_{quart}, 1 C), 152.4 (C_{quart}, 2 C), 153.4 (C_{quart}, 2 C), 155.9 (C_{quart}, 1 C), 166.1 (C_{quart}, 1 C), 168.6 (C_{quart}, 2 C); **IR** (KBr): (cm⁻¹) = 2933 (w), 2882 (w), 1709 (s), 1598 (w), 1501 (m), 1431 (m), 1390 (m), 1305 (m), 1217 (m), 1123 (m), 1030 (w), 968 (w), 747 (w); **MS** (ESI-MS, CH₂Cl₂/MeOH + 10 mmol/l NH₄OAc): *m/z* (%) = 856 (14, M + NH₄⁺), 800 (10), 783 (15), 739 (100), 732 (14); **UV** (MeOH): λ (ε) = 214 (44700), 250 (46500), 347 (1530); **C₄₃H₅₄N₂O₁₅**: ber. C 61.57 H 6.49 N 3.34, gef. C 60.58 H 6.53 N 3.13

(1-(1,3-(2-Hydroxy-5-(tert-butoxycarbonylamino-benzo)-14-(4,5-(N-(2-tert-butoxycarbonylamino-ethyl)-phthalimido)-25-krone-8 88

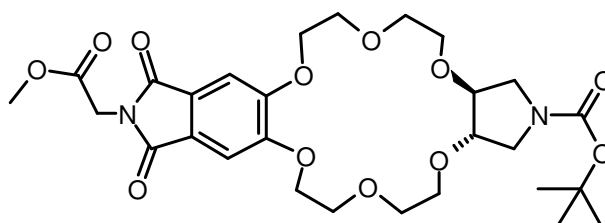


Verbindung **87** (30 mg, 0.036 mmol) wird in 10 ml EtOH gelöst, mit einer Spatelspitze 10 % Pd/C versetzt und 2 d bei 2 bar H₂ – Druck und Raumtemperatur gerührt. Anschließend wird der Katalysator über Celite abfiltriert und das Lösungsmittel abrotiert. Man erhält 21 mg (0.028 mmol, 78 %) farblosen Feststoff.

Schmp.: 72 – 75°C (135°C Zers.); **¹H-NMR** (300 MHz, CDCl₃): 1.36 (s, 9 H), 1.36 (t, *J* = 7.1 Hz, 3 H), 3.35 – 3.40 (m, 2 H), 3.72 – 3.76 (m, 2 H), 3.79 (s, 8 H), 3.84 – 3.87 (m, 4 H), 3.95 – 3.98 (m, 4 H), 4.16 – 4.19 (m, 4 H), 4.29 – 4.32 (m, 4 H), 4.32 (q, *J* = 7.1 Hz, 2 H), 4.89 (bs, 1 H), 7.29 (s, 2 H), 7.32 (s, 2 H); **¹³C-NMR** (100 MHz, CDCl₃): 13.4 (+, 1 C), 27.3 (+, 3 C),

36.9 (-, 1 C), 38.8 (-, 1 C), 59.8 (-, 1 C), 68.2 (-, 2 C), 68.3 (-, 2 C), 68.6 (-, 2 C), 68.8 (-, 2 C), 69.8 (-, 2 C), 70.0 (-, 2 C), 78.4 (C_{quart}, 1 C), 106.4 (+, 2 C), 109.7 (+, 2 C), 119.4 (C_{quart}, 1 C), 124.5 (C_{quart}, 2 C), 142.0 (C_{quart}, 1 C), 145.7 (C_{quart}, 2 C), 152.3 (C_{quart}, 2 C), 154.9 (C_{quart}, 1 C), 165.3 (C_{quart}, 1 C), 167.5 (C_{quart}, 2 C); **IR** (KBr): (cm⁻¹) = 3595 (m), 3382 (m), 2935 (m), 2877 (m), 1768 (m), 1705 (s), 1604 (m), 1514 (m), 1437 (s), 1390 (s), 1360 (m), 1320 (s), 1300 (s), 1104 (s), 1031 (m), 964 (m), 745 (m); **MS** (PI-EIMS, 70 eV): e/z (%) = 648 (95, M⁺ - C₄H₈ - CO₂), 560 (15), 179 (11), 86 (62), 84 (100); **UV** (MeOH): λ (ε) = 217 (28700), 249 (38700), 345 (1310)

(1-O,O-(S,S-3,4-Dihydroxy-pyrrolidin-1-carbonsäure-tert-butylester)-10-(4,5-phthalimidyl)-18-krone-6)-essigsäuremethylester (89)

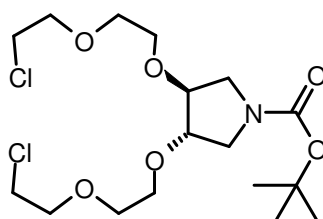


Verbindung **95** (395 mg, 0.95 mmol) wird in 10 ml DMF gelöst und über 10 h zu 239 mg (0.95 mmol) **37** und 1.31 g (9.50 mmol) K₂CO₃ in 30 ml DMF bei 100°C gegeben. Nach beendeter Zugabe wird noch weitere 20 h bei dieser Temperatur gerührt. Die abgekühlte Reaktions-mischung wird dann in 50 ml gesättigte Ammoniumchloridlösung und 50 ml Dichlormethan gegossen und die wässrige Phase noch 3 mal mit je 50 ml Dichlormethan ausgeschüttelt. Die vereinigten organischen Phasen werden mit 50 ml H₂O gewaschen, über MgSO₄ getrocknet und das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer abgezogen. Der Rückstand wird durch Säulenchromatographie an Kieselgel mit einem Laufmittelgradient von EE nach EE/EtOH 10/1 gereinigt. [R_f (EE) = 0.26]. Man erhält 80 mg (13.5 mmol, 14 %) eines weißen Feststoffes, der in Methanol umkristallisiert werden kann.

Schmp.: 130 – 132°C; **¹H- NMR** (300 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 1.37 (s, 9 H), 3.24 – 3.35 (m, 2 H), 3.46 – 3.56 (m, 2 H), 3.66 – 3.71 (m, 8 H), 3.81 – 3.86 (m, 2 H), 3.91 – 3.96 (m, 2 H), 4.05 – 4.15 (m, 2 H), 4.20 (t, J = 4.1 Hz, 4 H), 4.34 (s, 2 H), 7.25 (s, 2 H); **¹³C- NMR** (75 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 27.5 (+, 3 C), 37.8 (-, 1 C), 48.0 (-, 1 C), 48.6 (-, 1 C), 51.6 (+, 1 C), 67.9 (-, 2 C), 68.1 (-, 4 C), 69.9 (-, 2 C), 78.3 (C_{quart}, 1 C), 79.6 (+, 1 C), 80.4 (+, 1 C), 105.7 (+, 2 C), 124.4 (C_{quart}, 2 C), 152.5 (C_{quart}, 2 C), 153.6 (C_{quart}, 1 C), 166.6 (C_{quart}, 2 C), 167.0

(C_{quart}, 1 C); **IR** (KBr): (cm⁻¹) = 2954 (w), 2883 (w), 1751 (m), 1694 (m), 1414 (s), 1312 (s), 1221 (s), 1179 (m), 1097 (m), 943 (m), 754 (m); **MS** (ESI, CH₂Cl₂/MeOH + 10 mmol/l NH₄Ac) : *e/z* (%) = 595 (36, MH⁺), 539 (100, MH⁺-C₄H₈), 495 (47, MH⁺-C₄H₈-CO₂); **C₂₈H₃₈N₂O₁₂*CH₃OH**: ber.: C 55.58 H 6.76 N 4.74, gef.: C 55.15 H 6.53 N 4.39

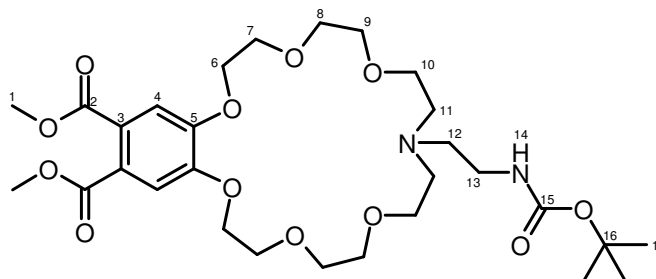
3,4-Bis-[2-(2-chlor-ethoxy)-ethoxy]-pyrrolidin-1-carbonsäure-tert-butylester (95)



R,R-*N*-Boc-3,4-Dihydroxypyrolidin (565 mg, 2.78 mmol) wird in 10 ml 2,2'-Dichlordiethylether gelöst und bei 0°C mit 10 ml 50 %iger NaOH und 1.89 g (5.56 mmol) *n*Bu₄NHSO₄ versetzt. Nach 2 h Rühren bei 0°C wird noch 2 d bei Raumtemperatur weitergerührt. Der Ansatz wird in eine Mischung aus 50 ml H₂O und 50 ml Dichlormethan gegossen und die wässrige Phase noch 2 mal mit je 50 ml Dichlormethan ausgeschüttelt. Die vereinigten organischen Phasen werden mit 50 ml H₂O gewaschen, über MgSO₄ getrocknet und das Lösungsmittel abrotiert. Der Rückstand wird durch SC an Kieselgel mit PE/EE 5/5 als Laufmittel weiter aufgereinigt (R_f = 0.38). Man erhält 905 mg (2.17 mmol, 78 %) des gewünschten Produkts als farbloses Öl.

¹H- NMR (300 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 1.38 (s, 9 H), 3.29 – 3.49 (m, 4 H), 3.54 – 3.60 (m, 12 H), 3.68 (t, J = 5.8 Hz, 4 H), 3.90 – 3.91 (m, 2 H); **¹³C- NMR** (75 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 28.5 (+, 3 C), 42.8 (-, 2 C), 48.9 (-, 1 C), 49.6 (-, 1 C), 68.8 (-, 2 C), 70.6 (-, 2 C), 71.4 (-, 2 C), 79.3 (C_{quart}, 1 C), 80.7 (+, 1 C), 81.7 (+, 1 C), 154.6 (C_{quart}, 1 C); **IR** (KBr) : $\bar{\nu}$ (cm⁻¹) = 3595 (w), 3505 (w), 2980 (s), 2933 (s), 2878 (s), 1705 (s), 1456 (m), 1410 (s), 1366 (s), 1300 (m), 1252 (m), 1170 (s), 1105 (s), 876 (m), 770 (m), 746 (m), 665 (m); **MS** (ESI, CH₂Cl₂/MeOH + 10 mmol/l NH₄Ac) : *e/z* (%) = 433 (31, M+NH₄⁺), 416 (75, MH⁺), 360 (24), 316 (51), 292 (100), 275 (21)

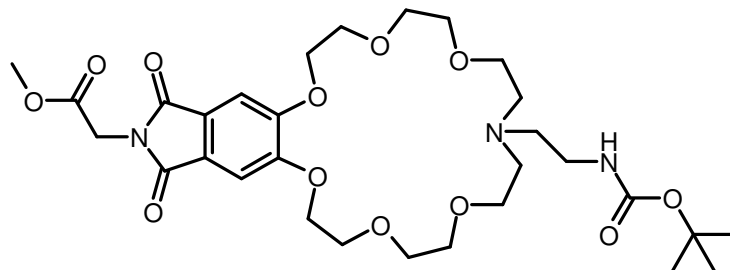
14-(2-tert-Butoxycarbonylamino-ethyl)-6,7,9,10,13,14,15,16,18,19,21,22-dodecahydro-12H-5,8,11,17,20,23-hexaoxa-14-aza-benzocycloheicosen-2,3-dicarbonsäuredimethylester (96)



Verbindung **73** (1.49 g, 1.87 mmol) wird in 30 ml Acetonitril mit 0.2 ml H₂O unter Normalatmosphäre gelöst. Danach werden 300 mg (1.87 mmol) *N*-Boc-ethylendiamin, 450 mg (2.70 mmol) KI und 2.50 g (18.0 mmol) K₂CO₃ nacheinander zugegeben. Der Ansatz wird über Nacht refluxiert und nach dem Abkühlen über Celite abfiltriert. Der Filterkuchen wird mit Acetonitril und Dichlormethan nachgewaschen. Das Lösungsmittel wird am Rotationsverdampfer abdestilliert und der Rückstand durch Säulenchromatographie an Kieselgel mit Essigsäureethylester/EtOH 3/1 als Laufmittel aufgereinigt (R_f = 0.1). Man erhält 900 mg (1.46 mmol, 79 %) gelblichen Feststoff.

Schmp.: 52 – 54°C; **¹H- NMR** (400 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 1.22 (s, 9 H, 17), 2.69 (bs, 2 H, 12), 2.75 (bs, 4 H, 11), 3.16 – 3.23 (m, 2 H, 13), 3.54 – 3.58 (m, 4 H, 10), 3.63 – 3.66 (m, 4 H, 9), 3.73 – 3.76 (m, 4 H, 9), 3.81 (s, 6 H, 1), 3.90 – 3.93 (m, 4 H, 8), 4.19 – 4.22 (m, 4 H, 7), 5.45 – 5.50 (bs, 1 H, 14), 7.19 (s, 2 H, 4); **¹³C- NMR** (100 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 28.4 (+, 3 C, 17), 39.2 (-, 1 C, 13), 52.6 (+, 2 C, 1), 54.6 (-, 1 C, 12), 54.6 (-, 2 C, 11), 68.1 (-, 2 C, 10), 69.1 (-, 2 C, 6), 69.3 (-, 2 C, 7), 70.1 (-, 4 C, 8, 9), 79.2 (C_{quart}, 1 C, 16), 114.5 (+, 2 C, 4), 126.1 (C_{quart}, 2 C, 3), 150.3 (C_{quart}, 2 C, 5), 156.5 (C_{quart}, 1 C, 15), 167.5 (C_{quart}, 2 C, 2); **IR** (KBr): $\bar{\nu}$ (cm⁻¹) = 3414 (bm), 2947 (m), 2878 (m), 1716 (s), 1600 (m), 1520 (m), 1436 (m), 1352 (m), 1291 (s), 1252 (m), 1181 (m), 1130 (m), 1055 (m), 977 (m), 945 (m), 781 (m); **MS** (ESI-MS, CH₂Cl₂/MeOH + 10 mmol/l NH₄OAc): e/z (%) = 615 (100, MH⁺), 559 (23, MH⁺ - C₄H₈); **UV** (MeOH): λ (ε) = 268 (7600), 224 (29500); **HRMS** (PI-LSIMS, MeOH/Glycerin): ber. für C₂₉H₄₆N₂O₁₂*H⁺: 615.3129, gef.: 615.3114

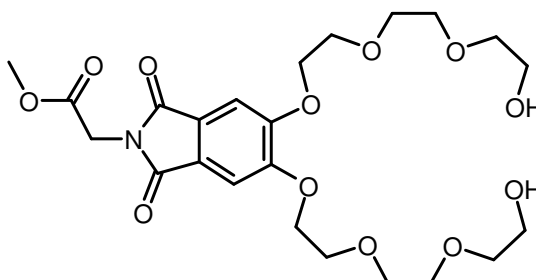
[11-(2-*tert*-Butoxycarbonylamino-ethyl)-24,26-dioxo-2,5,8,14,17,20-hexaoxa-11,25-diazatricyclo[19.7.0.0^{23,27}]octacos-1(28),21,23(27)-trien-25-yl]-essigsäuremethylester (97)



Verbindung **99** (256 mg, 0.31 mmol) wird mit 50 mg (0.31 mmol) *N*-Boc-ethylendiamin in 6 ml Acetonitril gelöst. Nach Zugabe von 75 mg (0.45 mmol) KI und 430 mg (3.1 mmol) K₂CO₃ wird der Ansatz über Nacht refluxiert. Nach dem Abkühlen wird über Celite abfiltriert. Der Filterkuchen wird mit Acetonitril und Dichlormethan nachgewaschen. Das Lösungsmittel wird am Rotationsverdampfer abdestilliert und der Rückstand durch Säulenchromatographie an Kieselgel mit Dichlormethan/EtOH 15/1 als Laufmittel aufgereinigt. Man erhält 150 mg (0.23 mmol, 75 %) gelblichen Feststoff.

Schmp.: 90 – 92°C; **¹H- NMR** (300 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 1.3 (s, 9 H), 2.63 – 2.93 (m, 6 H), 3.19 (bs, 2 H), 3.58 – 3.65 (m, 8 H), 3.69 (s, 3 H), 3.71 – 3.73 (m, 4 H), 3.88 – 3.90 (m, 4 H), 4.18 – 4.21 (m, 4 H), 4.33 (s, 2 H), 5.52 (bs, 1 H), 7.25 (s, 2 H); **¹³C- NMR** (75 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 27.4 (+, 3 C), 37.8 (-, 1 C), 51.6 (+, 1 C), 52.9 (-, 1 C), 53.5 (-, 2 C), 57.3 (-, 1 C), 67.6 (-, 2 C), 68.3 (-, 2 C), 68.5 (-, 2 C), 69.5 (-, 2 C), 70.1 (-, 2 C), 78.1 (C_{quart}, 1 C), 106.2 (+, 2 C), 124.5 (C_{quart}, 2 C), 152.6 (C_{quart}, 2 C), 155.2 (C_{quart}, 1 C), 166.5 (C_{quart}, 2 C), 167.0 (C_{quart}, 1 C); **IR** (KBr): (cm⁻¹) = 3379 (bm), 3111 (w), 3058 (w), 2932 (m), 2881 (m), 1749 (s), 1705 (s), 1597 (m), 1504 (m), 1412 (s), 1304 (s), 1219 (s), 1113 (s), 1045 (m), 943 (m), 750 (m); **MS** (ESI-MS, CH₂Cl₂/MeOH + 10 mmol/l NH₄OAc): *e/z* (%) = 640 (100, MH⁺), 584 (23, MH⁺ - C₄H₈); **UV** (MeOH): λ (ε) = 343 (1800), 297 (1800), 247 (41700)

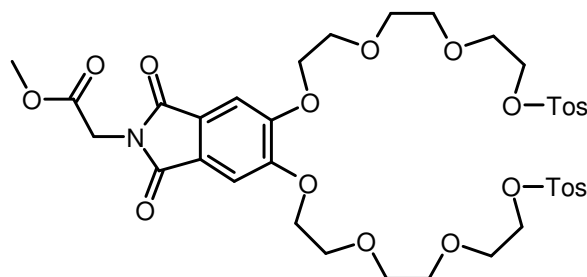
(5,6-Bis-{2-[2-(2-hydroxy-ethoxy)-ethoxy]-ethoxy}-1,3-dioxo-1,3-dihydro-isoindol-2-yl)-essigsäuremethylester (98)



Verbindung **37** (803 mg, 3.20 mmol) und Triethylenglykolmonotosylat (2.06 g, 6.77 mmol) werden zusammen mit 1.38 g (10 mmol) K_2CO_3 in 20 ml Acetonitril 16 h refluxiert. Nach dem Abkühlen wird der Ansatz auf 100 ml Eiswasser gegossen und vier mal mit je 50 ml Dichlormethan ausgeschüttelt. Die vereinigten organischen Phasen werden über $MgSO_4$ getrocknet und das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer abgezogen. Der Rückstand wird durch Säulenchromatographie an Kieselgel mit Essigsäureethylester/EtOH 8/2 als Laufmittel aufgereinigt. Man erhält 410 mg (0.80 mmol, 25 %) farbloses Öl.

1H - NMR (300 MHz, $CDCl_3$): δ [ppm] = 3.04 (bs, 2 H, OH), 3.52 – 3.55 (m, 4 H), 3.60 – 3.70 (m, 12 H), 3.68 (s, 3 H), 3.84 – 3.87 (m, 4 H), 4.20 – 4.23 (m, 4 H), 4.32 (s, 2 H), 7.28 (s, 2 H); **^{13}C - NMR** (75 MHz, $CDCl_3$): δ [ppm] = 38.7 (-, 1 C), 52.6 (+, 1 C), 61.6 (-, 2 C), 69.1 (-, 2 C), 69.2 (-, 2 C), 70.3 (-, 2 C), 70.6 (-, 2 C), 70.9 (-, 2 C), 72.7 (-, 2 C), 107.5 (+, 2 C), 125.5 (C_{quart} , 2 C), 153.6 (C_{quart} , 2 C), 167.5 (C_{quart} , 2 C), 168.0 (C_{quart} , 1 C); **IR** (KBr): $\bar{\nu}$ (cm^{-1}) = 3390 (bm), 3113 (w), 3075 (w), 3053 (w), 2875 (m), 1725 (s), 1702 (s), 1595 (s), 1494 (m), 1421 (s), 1308 (s), 1224 (s), 1115 (s), 940 (s), 895 (m), 750 (m); **MS** (PI-EIMS, 70 eV): e/z (%) = 515 (25, M^+), 277 (12), 262 (10), 218 (50), 191 (12), 133 (43), 89 (51), 45 (100); **$C_{23}H_{33}NO_{12} \cdot 0.5H_2O$** : ber.: C 52.67 H 6.53 N 2.67, gef.: C 52.60 H 6.27 N 2.84

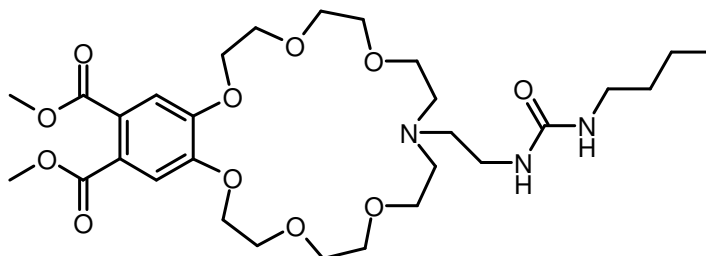
(5,6-Bis-{2-[2-(2-(toluol-4-sulfonyloxy)-ethoxy)-ethoxy]-ethoxy}-1,3-dioxo-1,3-dihydro-isoindol-2-yl)-essigsäuremethylester **99**



Verbindung **98** (320 mg, 0.62 mmol) wird in 5 ml Dichlormethan gelöst und bei 0°C mit 262 mg (1.37 mmol) Tosylchlorid versetzt. Anschließend werden ca. 20 mg DMAP als Katalysator und 194 μ l (142 mg, 1.4 mmol) Triethylamin zugegeben. Der Ansatz wird bei Raumtemperatur zunächst 3 d gerührt und dann noch einmal aufgrund nicht vollständigen Umsatzes mit gleichen Mengen an Tosylchlorid und Triethylamin versetzt. Nach weiteren 24 h Rühren bei Raumtemperatur wird in 20 ml Wasser abgegossen, 3 mal mit je 20 ml Dichlormethan ausgeschüttelt, die vereinigten organischen Phasen mit 10 ml Wasser gewaschen und über MgSO_4 getrocknet. Nach dem Abrotieren des Lösungsmittels wird der Rückstand durch Säulenchromatographie an Kieselgel mit PE/Essigsäureethylester 20/80 als Laufmittel aufgereinigt. Man erhält 326 mg (0.40 mmol, 64 %) gelbliches Wachs.

^1H - NMR (300 MHz, CDCl_3): δ [ppm] = 2.41 (s, 6 H), 3.57 – 3.60 (m, 4 H), 3.64 – 3.69 (m, 8 H), 3.73 (s, 3 H), 3.84 – 3.87 (m, 4 H), 4.12 – 4.15 (m, 4 H), 4.21 – 4.24 (m, 4 H), 4.37 (s, 2 H), 7.31 (d, J = 8.4 Hz, 4 H), 7.32 (s, 2 H), 7.76 (d, J = 8.4 Hz, 4 H); **^{13}C - NMR** (75 MHz, CDCl_3): δ [ppm] = 21.6 (+, 2 C), 38.7 (-, 1 C), 52.6 (+, 1 C), 68.7 (-, 2 C), 69.2 (-, 2 C), 69.3 (-, 2 C), 69.4 (-, 2 C), 70.8 (-, 2 C), 70.9 (-, 2 C), 107.5 (+, 2 C), 125.5 (C_{quart} , 2 C), 127.9 (+, 4 C), 129.8 (+, 4 C), 132.9 (C_{quart} , 2 C), 144.8 (C_{quart} , 2 C), 153.7 (C_{quart} , 2 C), 167.5 (C_{quart} , 2 C), 168.0 (C_{quart} , 1 C); **IR** (NaCl): $\bar{\nu}$ (cm^{-1}) = 2954 (w), 2925 (w), 2872 (w), 1751 (m), 1712 (s), 1598 (m), 1499 (w), 1416 (m), 1356 (m), 1308 (s), 1219 (m), 1176 (s), 1121 (m), 1096 (m), 1015 (w), 922 (m), 816 (w), 754 (m); **MS** (ESI-MS, $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ + 10 mmol/l NH_4OAc): e/z (%) = 841 (100, $\text{M}+\text{NH}_4^+$), 824 (35, MH^+)

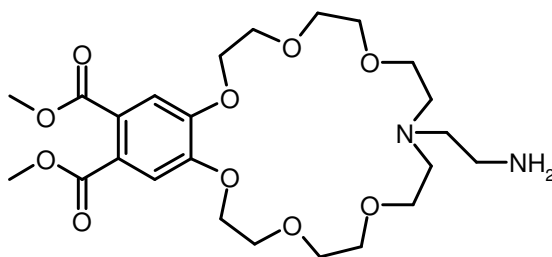
14-[2-(3-Butyl-ureido)-ethyl]-6,7,9,10,13,14,15,16,18,19,21,22-dodecahydro-12H-5,8,11,17,20,23-hexaoxa-14-aza-benzocycloheneicosen-2,3-dicarbonsäure-dimethylester (100)



Verbindung **101** (26 mg, 0.05 mmol) wird zusammen mit 0.51 ml (460 mmol, 450 mg) n-Butylisocyanat in 1 ml Dichlormethan 5 Tage bei Raumtemperatur gerührt. Danach wird das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer abdestilliert und der Rückstand chromatographiert (Kieselgel, Lösungsmittel CHCl₃/MeOH 3/1, R_f = 0.36). Man erhält 10 mg (0.016 mmol, 33 %) farbloses, zähes Öl.

¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 0.85 (t, *J* = Hz, 3 H), 1.22 – 1.42 (m, 4 H), 2.01 (bs, 2 H), 2.66 (bs, 1 H), 2.75 (bs, 4 H), 3.05 (bs, 2 H), 3.29 (bs, 2 H), 3.57 – 3.63 (m, 4 H), 3.66 – 3.70 (m, 4 H), 3.76 – 3.80 (m, 4 H), 3.89 (s, 6 H), 3.90 – 3.96 (m, 4 H), 7.19 (s, 0.7 H), 7.21 (s, 1.3 H); **¹³C-NMR** (75 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = Zu wenig Substanz, um ein aussagekräftiges ¹³C Spektrum aufnehmen zu können; **IR** (NaCl): $\bar{\nu}$ (cm⁻¹) = 3410 (bs), 2928 (m), 1721 (s), 1648 (m), 1566 (w), 1521 (w), 1351 (m), 1291 (s), 1198 (s), 1131 (s), 1057 (w), 978 (w), 947 (w), 754 (m); **MS** (PI-LSIMS, MeOH/Glycerin): *e/z* (%) = 614 (100, MH⁺), 557 (37, MH⁺ - C₄H₉); **UV** (MeOH): λ (ε) = 267 (7600), 224 (27900); **HRMS** (PI-LSIMS, MeOH/Glycerin): ber. für C₂₉H₄₇N₃O₁₁*H⁺ 614.3289, gef. 614.3282

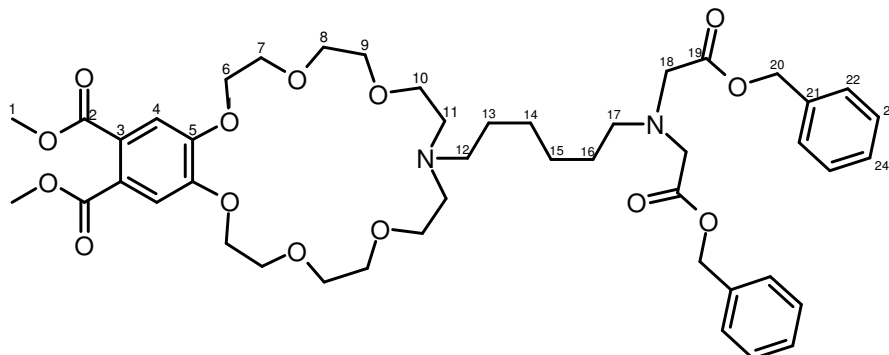
14-(2-Amino-ethyl)-6,7,9,10,13,14,15,16,18,19,21,22-dodecahydro-12H-5,8,11,17,20,23-hexaoxa-14-aza-benzocycloheneicosene-2,3-dicarbonsäure-dimethylester (101)



Verbindung **96** (408 mg, 0.66 mmol) wird in 14 ml Dichlormethan gelöst und mit 7 ml TFA versetzt. Nach 2 h Rühren bei Raumtemperatur wird das Lösungsmittel abgezogen. Anschließend nimmt man den Rückstand in 20 ml CHCl_3 auf und schüttelt mit 40 ml gesättigter NaHCO_3 Lösung aus. Die wässrige Phase wird noch zwei mal mit je 20 ml CHCl_3 extrahiert, die vereinigten organischen Phasen über MgSO_4 getrocknet und das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer abgezogen. Man erhält 234 mg (0.46 mmol, 69 %) farbloses, zähflüssiges Öl.

^1H -NMR (300 MHz, CDCl_3): δ [ppm] = 2.79 - 2.82 (m, 4 H), 2.90 (bs, 4 H), 3.51 – 3.53 (m, 4 H), 3.63 – 3.64 (m, 4 H), 3.72 – 3.73 (m, 4 H), 3.81 (s, 6 H), 3.93 – 3.94 (m, 4 H), 4.19 – 4.21 (m, 4 H), 7.17 (s, 2 H); **^{13}C -NMR** (75 MHz, CDCl_3): δ [ppm] = 38.2 (-, 1 C), 51.1 (-, 1 C), 52.7 (+, 2 C), 55.5 (-, 2 C), 68.8 (-, 2 C), 69.2 (-, 2 C), 69.7 (-, 2 C), 69.8 (-, 2 C), 70.5 (-, 2 C), 113.0 (+, 2 C), 126.0 (C_{quart} , 2 C), 149.3 (C_{quart} , 2 C), 167.4 (C_{quart} , 2 C); **IR** (NaCl): $\bar{\nu}(\text{cm}^{-1})$ = 3433 (bw), 3242 (w), 2914 (m), 1722 (s), 1690 (s), 1599 (m), 1518 (w), 1462 (w), 1436 (m), 1350 (m), 1290 (s), 1198 (s), 1129 (s), 979 (w), 948 (w); **MS** (ESI-MS, $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ + 10 mmol/l NH_4OAc): e/z (%) = 515 (100, MH^+), 425 (10)

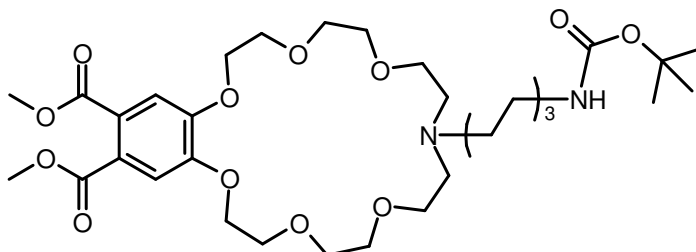
14-[6-(Bis-benzyloxycarbonylmethyl-amino)-hexyl]-6,7,9,10,13,14,15,16,18,19,21,22-dodecahydro-12H-5,8,11,17,20,23-hexaoxa-14-aza-benzocycloheneicosen-2,3-dicarbonsäuredimethylester (104)



Eine Lösung von 720 mg (0.90 mmol) **73** und 453 mg (0.93 mmol) **103** in einer Mischung von 14 ml Acetonitril und 0.1 ml H₂O wird mit 150 mg (0.90 mmol) KI und 1.38 g (10.0 mmol) K₂CO₃ versetzt und 2 Tage refluxiert. Nach dem Abkühlen wird der Ansatz über Celite abfiltriert, mit Acetonitril und CHCl₃ nachgewaschen und das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer abdestilliert. Der Rückstand wird durch Säulenchromatographie an Kieselgel mit CHCl₃/MeOH 20/1 als Laufmittel aufgereinigt [R_f (CHCl₃/MeOH 9/1) = 0.28]. Man erhält 720 mg (0.83 mmol, 92 %) farbloses Öl.

¹H- NMR (300 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 1.17 – 1.18 (m, 4 H, 14, 15), 1.30 – 1.36 (bm, 2 H, 16), 1.55 – 1.63 (bm, 2 H, 13), 2.56 – 2.63 (m, 2 H, 17), 2.96 – 3.04 (bm, 2 H, 12), 3.26 – 3.40 (bm, 4 H, 11), 3.51 (s, 4 H, 18), 3.62 – 3.66 (m, 8 H, 8, 9), 3.79 – 3.81 (m, 8 H, 7, 10), 3.80 (s, 6 H, 1), 4.12 – 4.15 (m, 4 H, 6), 5.05 (s, 4 H, 20), 7.13 (s, 2 H, 4), 7.25 – 7.28 (m, 10 H, 22, 23, 24); **¹³C- NMR** (75 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 23.3 (-, 1 C, 13), 25.5 & 25.6 (-, 2 C, 14, 15), 26.7 (-, 1 C, 16), 51.6 (+, 2 C, 1), 52.6 (-, 2 C, 11), 53.0 (-, 1 C, 17), 54.0 (-, 2 C, 18), 54.3 (-, 1 C, 12), 65.0 (-, 2 C, 10), 65.2 (-, 2 C, 20), 67.6 (-, 2 C, 6), 68.4 (-, 2 C, 7), 69.3 & 69.6 (-, 4 C, 8, 9), 112.2 (+, 2 C, 4), 124.4 (C_{quart}, 2 C, 3), 127.3 (+, 4 C, 22), 127.3 (+, 2 C, 24), 127.6 (+, 4 C, 23), 134.7 (C_{quart}, 2 C, 21), 149.0 (C_{quart}, 2 C, 5), 166.6 (C_{quart}, 2 C, 2), 170.1 (C_{quart}, 2 C, 19); **MS** (ESI-MS, CH₂Cl₂/MeOH + 10 mmol/l NH₄OAc): e/z (%) = 867 (100, MH⁺), 777 (10), 434 (15, M + 2 H⁺)

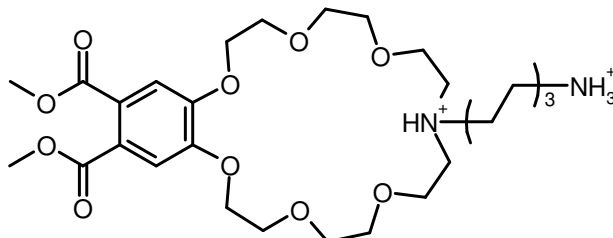
14-(6-tert-Butoxycarbonylamino-hexyl)-6,7,9,10,13,14,15,16,18,19,21,22-dodecahydro-12H-5,8,11,17,20,23-hexaoxa-14-aza-benzocycloheicosene-2,3-dicarbonsäure-dimethylester (107)



Eine Lösung von 640 mg (0.78 mmol) **73** und 170 mg (0.78 mmol) *N*-Boc-1,6-Diaminohexan in einer Mischung von 10 ml Acetonitril und 0.1 ml H₂O wird mit 116 mg (0.70 mmol) KI und 1.07 g (7.7 mmol) K₂CO₃ versetzt und 2 Tage refluxiert. Nach dem Abkühlen wird der Ansatz über Celite abfiltriert, es wird mit Acetonitril und CHCl₃ nachgewaschen und das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer abdestilliert. Der Rückstand wird durch Säulenchromatographie an Kieselgel mit CHCl₃/EtOH 20/1 als Laufmittel aufgereinigt [R_f (CHCl₃/MeOH 5/1) = 0.17]. Man erhält 310 mg (0.56 mmol, 59 %) farbloses Öl.

¹H- NMR (300 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 1.18 – 1.22 (m, 4 H), 1.32 – 1.37 (m, 2 H), 1.37 (s, 9 H), 1.69 (bs, 2 H), 2.98 (q, *J* = 6.5 Hz, 2 H), 3.11 (bs, 2 H), 3.40 (bs, 4 H), 3.63 – 3.67 (m, 8 H), 3.79 – 3.84 (m, 4 H), 3.82 (s, 6 H), 3.88 (bs, 4 H), 4.15 – 4.17 (m, 4 H), 4.58 (bs, 1 H), 7.15 (s, 2 H); **¹³C- NMR** (75 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 23.8 (-, 1 C), 26.2 (-, 1 C), 26.3 (-, 1 C), 28.5 (+, 3 C), 29.7 (-, 1 C), 40.3 (-, 1 C), 52.7 (+, 2 C), 53.5 (-, 2 C), 55.2 (-, 1 C), 65.5 (-, 2 C), 68.7 (-, 2 C), 69.5 (-, 2 C), 70.4 (-, 2 C), 70.7 (-, 2 C), 79.0 (C_{quart}, 1 C), 113.3 (+, 2 C), 125.5 (C_{quart}, 2 C), 150.1 (C_{quart}, 2 C), 156.0 (C_{quart}, 1 C), 167.7 (C_{quart}, 2 C); **MS** (ESI-MS, CH₂Cl₂/MeOH + 10 mmol/l NH₄OAc): *m/z* (%) = 671 (100, MH⁺)

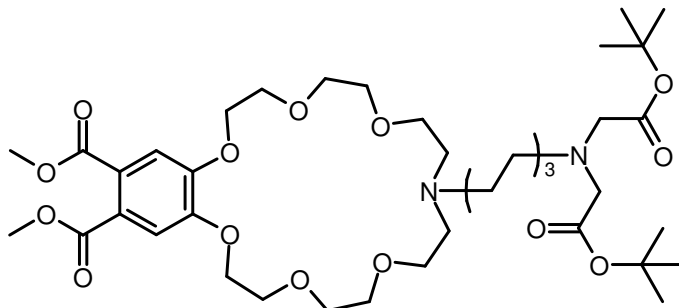
14-(6-Amino-hexyl)-6,7,9,10,13,14,15,16,18,19,21,22-dodecahydro-12H-5,8,11,17,20,23-hexaoxa-14-aza-benzocycloheneicosene-2,3-dicarbonsäure-dimethylester Dihydrochlorid (108)



Verbindung **107** (278 mg, 0.41 mmol) wird in Diethylether gelöst und mit HCl gesättigtem Diethylether versetzt. Das geschützte Amin beginnt als Ammoniumchlorid auszufallen. Nach 90 min wird das Produkt abgesaugt und im Hochvakuum getrocknet. Man erhält 237 mg (0.37 mmol, 90 %) farblosen, hygroskopischen Feststoff.

Schmp.: 66-68°C; **¹H- NMR** (300 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 1.18 – 1.24 (m, 4 H), 1.44 – 1.54 (m, 2 H), 1.55 – 1.65 (m, 2 H), 2.67 – 2.74 (m, 2 H), 3.07 – 3.15 (m, 2 H), 3.3 – 3.7 (m, 4 H), 3.60 – 3.64 (m, 8 H), 3.78 – 3.83 (m, 8 H), 3.79 (s, 6 H), 4.20 – 4.22 (m, 4 H), 7.28 (s, 2 H), 7.96 (bs, 3 H), 10.0 (bs, 1 H); **¹³C- NMR** (75 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 22.7 (-, 1 C), 25.2 (-, 1 C), 25.3 (-, 1 C), 26.6 (-, 1 C), 51.7 (-, 2 C), 52.4 (+, 2 C), 53.0 (-, 1 C), 64.6 (-, 2 C), 68.4 (-, 2 C), 68.6 (-, 2 C), 69.6 (-, 2 C), 69.9 (-, 2 C), 112.6 (+, 2 C), 124.5 (C_{quart}, 2 C), 149.7 (C_{quart}, 2 C), 167.0 (C_{quart}, 2 C); **IR** (KBr): $\bar{\nu}$ (cm⁻¹) = 3439 (bm), 2923 (m), 2856 (w), 1719 (s), 1610 (m), 1510 (m), 1420 (m), 1330 (m), 1290 (s), 1200 (s), 1115 (s); **MS** (ESI-MS, CH₂Cl₂/MeOH + 10 mmol/l NH₄OAc): e/z (%) = 571 (100, MH⁺), 186 (18, MH₂²⁺)

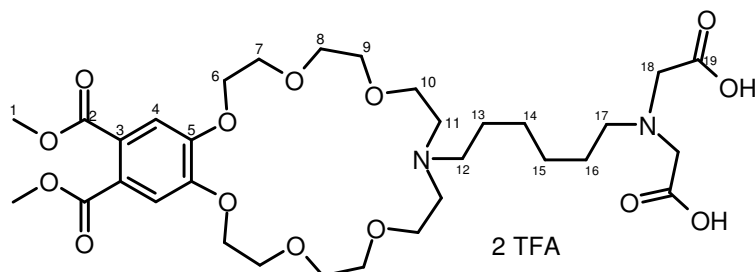
14-[6-(Bis-*tert*-butyloxycarbonylmethyl-amino)-hexyl]-6,7,9,10,13,14,15,16,18,19,21,22-dodecahydro-12H-5,8,11,17,20,23-hexaoxa-14-aza-benzocycloheneicosen-2,3-dicarbonsäuredimethylester (109)



Verbindung **107** (227 mg, 0.35 mmol) wird in Acetonitril gelöst und mit 114 μ l (150 mg, 0.77 mmol) *tert*-Butyl-bromacetat, 319 mg (2.31 mmol) K_2CO_3 und einer Spatelspitze KI versetzt. Die Suspension wird 2 Tage bei 60°C gerührt, danach abfiltriert, mit Wasser versetzt und drei mal mit Essigsäureethylester extrahiert. Die vereinigten organischen Lösungsmittel werden über Na_2SO_4 getrocknet, das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer abgezogen und der Rückstand chromatographiert. [Kieselgel, $CHCl_3/MeOH$ 20/1 \rightarrow 15/1, R_f ($CHCl_3/MeOH$ 6/1) = 0.33] Man erhält 100 mg (0.13 mmol, 36 %) leicht gelbliches Öl.

1H -NMR (300 MHz, $DMSO-d_6$): δ [ppm] = 1.19 – 1.22 (m, 4 H), 1.37 – 1.43 (m, 4 H), 1.40 (s, 18 H), 2.41 (bs, 2 H), 1.57 – 1.62 (m, 2 H), 2.70 (bs, 4 H), 3.36 (s, 4 H), 3.51 – 3.62 (m, 8 H), 3.69 – 3.72 (m, 4 H), 3.82 (s, 6 H), 3.85 – 3.88 (m, 4 H), 4.14 – 4.17 (m, 4 H), 7.14 (s, 2 H); **^{13}C -NMR** (75 MHz, $DMSO-d_6$): δ [ppm] = 27.2 (-, 1 C), 27.4 (-, 1 C), 28.0 (-, 1 C), 28.2 (-, 1 C), 28.2 (+, 6 C), 52.6 (-, 2 C), 52.6 (+, 2 C), 53.9 (-, 2 C), 54.1 (-, 1 C), 55.8 (-, 1 C), 55.9 (-, 2 C), 69.3 (-, 2 C), 69.5 (-, 2 C), 70.9 (-, 2 C), 71.1 (-, 2 C), 80.8 (C_{quart} , 2 C), 113.6 (+, 2 C), 125.4 (C_{quart} , 2 C), 150.5 (C_{quart} , 2 C), 167.8 (C_{quart} , 2 C), 170.8 (C_{quart} , 2 C); **IR** (NaCl): $\bar{\nu}$ (cm^{-1}) = 2931 (m), 2863 (m), 1725 (s), 1599 (w), 1518 (w), 1435 (m), 1353 (m), 1289 (s), 1131 (s), 1161 (m), 981 (w), 943 (w); **MS** (ESI-MS, $CH_2Cl_2/MeOH$ + 10 mmol/l NH_4OAc): e/z (%) = 800 (100, MH^+), 344 (17, $[M + 2 H^+ - 2 C_4H_8]^{2+}$); **HRMS** (EI-MS, 70 eV): ber. für $C_{40}H_{66}N_2O_{14}$: 798.4514, gef.: 798.4507

14-[6-(Bis-carboxymethyl-amino)-hexyl]-6,7,9,10,13,14,15,16,18,19,21,22-dodecahydro-12H-5,8,11,17,20,23-hexaoxa-14-aza-benzocycloheneicosen-2,3-dicarbonsäuredimethylester (110)



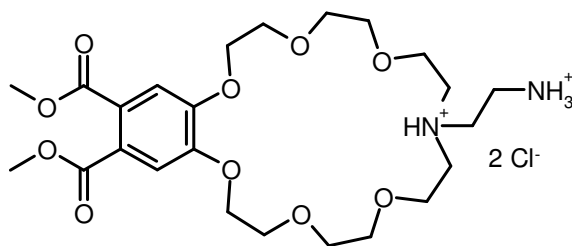
Verbindung **110** (70 mg, 0.09 mmol) wird in 5 ml TFA gelöst und 2 h bei Raumtemperatur gerührt. Nach dem Abziehen des TFA wird der Rückstand in Diethylether aufgeschlämmt und abdekantiert. Man erhält 82 mg (0.09 mmol, 100 %) eines farblosen, hygroskopischen Feststoffes.

Schmp.: 38 – 40°C; **¹H- NMR** (600 MHz, D₂O): δ [ppm] = 0.93 – 0.98 (m, 2 H, 15), 1.01 – 1.04 (m, 2 H, 14), 1.41 – 1.46 (m, 4 H, 13, 16), 2.99 – 3.02 (m, 2 H, 12), 3.07 – 3.10 (m, 2 H, 17), 3.23 – 3.27 (m, 2 H, 11), 3.29 – 3.33 (m, 2 H, 11), 3.58 – 3.63 (m, 6 H, 10, 8/9), 3.66 – 3.74 (m, 6 H, 8/9), 3.78 (s, 6 H, 1), 3.77 – 3.80 (m, 2 H, 7), 3.86 – 3.89 (m, 2 H, 7), 4.05 (s, 4 H, 18), 4.05 – 4.08 (m, 2 H, 6), 4.17 – 4.20 (m, 2 H, 6), 7.18 (s, 2 H, 4); **¹³C- NMR** (100 MHz, D₂O): δ [ppm] = 22.6 & 23.0 (-, 2 C, 14, 15), 25.0 & 25.1 (-, 2 C, 13, 16), 53.2 (-, 1 C, 12), 53.2 (+, 2 C, 1), 53.7 (-, 2 C, 11), 54.4 (-, 2 C, 18), 56.4 (-, 1 C, 17), 63.7 (-, 2 C, 10), 68.2 (-, 2 C, 6), 68.9 (-, 2 C, 7), 69.8 (-, 4 C, 8, 9), 112.6 (+, 2 C, 4), 124.7 (C_{quart}, 2 C, 3), 149.6 (C_{quart}, 2 C, 5), 168.1 (C_{quart}, 2 C, 2), 169.3 (C_{quart}, 2 C, 19) [TFA Signale wurden nicht berücksichtigt]; **IR** (KBr): $\bar{\nu}$ (cm⁻¹) = 3450 (bm), 2930 (m), 2890 (m), 1732 (s), 1294 (m), 1196 (s), 1132 (s), 797 (w); **MS** ((-)-ESI-MS, CH₂Cl₂/MeOH + 10 mmol/l NH₄OAc): e/z (%) = 685 (100, M - H⁺), 385 (14), 248 (25)

The chemical structure of compound 1 is a complex macrocyclic molecule. It features a central phthalimide core (atoms 14-17) with two large macrocyclic rings (atoms 1-13 and 18-25) attached to the nitrogen atoms (12 and 24). The macrocyclic rings are composed of repeating units of 1,3-dioxane and 1,3-dioxolane. The structure is numbered 1 through 29, with the central phthalimide core numbered 14-17, the left macrocycle 1-13, and the right macrocycle 18-25. The terminal groups of the macrocycles are numbered 1-13 and 18-25, respectively. The central phthalimide core is numbered 14-17, with the nitrogen atoms at 12 and 24. The structure is shown in a 2D representation with bond angles and atom positions.

¹H-NMR (600 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 1.42 (s, 9 H, 29), 2.60 (bs, 2 H, 24), 2.74 (bs, 4 H, 11), 2.74 – 2.77 (m, 2 H, 12), 2.80 – 2.82 (m, 4 H, 23), 3.16 (bs, 2 H, 25), 3.53 – 3.54 (m, 4 H, 22), 3.56 (bs, 4 H, 10), 3.58 – 3.60 (m, 4 H, 9), 3.67 – 3.68 (m, 6 H, 21, 13), 3.69 – 3.71 (m, 4 H, 8), 3.78 – 3.79 (m, 4 H, 20), 3.85 (s, 6 H), 3.88 – 3.89 (m, 4 H, 7), 3.93 – 3.94 (m, 4 H, 19), 4.17 – 4.19 (m, 4 H, 6), 4.22 – 4.23 (m, 4 H, 18), 5.48 (bs, 1 H), 7.16 (s, 2 H, 4), 7.23 (s, 2 H, 16); **¹³C-NMR** (150 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 28.5 (+, 3 C, 29), 36.1 (-, 1 C, 13), 38.7 (-, 1 C, 25), 52.5 (+, 2 C, 1), 52.9 (-, 1 C, 12), 54.1 (-, 1 C, 24), 54.2 (-, 2 C, 23), 54.6 (-, 2 C, 11), 69.3 (-, 2 C, 6), 69.4 (-, 2 C, 19), 69.5 (-, 2 C, 7), 69.6 (-, 2 C, 18), 69.7 (-, 2 C, 10), 70.2 (-, 2 C, 22), 70.5 (-, 2 C, 9), 70.7 (-, 2 C, 21), 71.1 (-, 2 C, 8), 71.3 (-, 2 C, 20), 78.8 (C_{quart}, 1 C, 28), 106.9 (+, 2 C, 16), 113.7 (+, 2 C, 4), 125.3 & 125.6 (C_{quart}, 4 C, 3, 15), 150.5 (C_{quart}, 2 C, 5), 153.4 (C_{quart}, 2 C, 17), 156.2 (C_{quart}, 1 C, 27), 167.7 (C_{quart}, 2 C, 14), 168.4 (C_{quart}, 2 C, 2); **IR** (NaCl): $\bar{\nu}$ (cm⁻¹) = 3400 (bw), 2930 (m), 2880 (m), 1707 (s), 1599 (m), 1510 (m), 1436 (m), 1393 (m), 1352 (m), 1291 (s), 1196 (m), 1129 (s), 1056 (m), 980 (w), 945 (w); **MS** (ESI-MS, CH₂Cl₂/MeOH + 10 mmol/l NH₄OAc): *m/z* (%) = 1065 (100, MH⁺), 965 (18, MH⁺ - C₄H₈ - CO₂), 922 (15, MH⁺ - C₄H₈ - CO₂ - C₂H₅N); **UV** (MeOH): λ (ε) = 340 (1400), 248 (40300), 227 (38200); **HRMS** (PI-LSIMS, MeOH/Glycerin): ber. für C₅₁H₇₆N₄O₃₀*H⁺: 1065.5131, gef.: 1065.5136

14-(2-Amino-ethyl)-6,7,9,10,13,14,15,16,18,19,21,22-dodecahydro-12H-5,8,11,17,20,23-hexaoxa-14-aza-benzocycloheneicosen-2,3-dicarbonsäure-dimethylester (113)

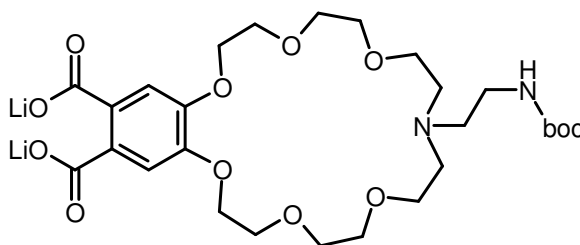


Verbindung **96** (730 mg, 1.18 mmol) wird in 15 ml Dichlormethan gelöst und mit 10 ml HCl gesättigtem Diethylether versetzt. Der Ansatz wird 3 h lang gerührt, danach wird vom ausgefallenen Produkt abdekantiert, mit Diethylether aufgeschlämmt und wieder abdekantiert. Nach Trocknung im Hochvakuum erhält man 660 mg (1.12 mmol, 95 %) weißen Feststoff.

¹H- NMR (300 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 3.35 (bs, 4 H), 3.50 – 3.68 (m, 12 H), 3.76 (bs, 4 H), 3.79 (s, 6 H), 3.84 (bs, 4 H), 4.20 (bs, 4 H), 7.15 (s, 2 H), 7.83 (bs, 3 H), 12.61 (bs, 1 H)

¹³C- NMR (75 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 36.1 (-, 1 C), 51.0 (-, 1 C), 52.7 (+, 2 C), 56.3 (-, 2 C), 65.2 (-, 2 C), 68.9 (-, 2 C), 69.0 (-, 2 C), 69.9 (-, 2 C), 70.3 (-, 2 C), 112.8 (+, 2 C), 125.0 (C_{quart}, 2 C), 147.9 (C_{quart}, 2 C), 166.4 (C_{quart}, 2 C); **MS** (ESI-MS, CH₂Cl₂/MeOH + 10 mmol/l NH₄OAc): e/z (%) = 515 (100, MH⁺)

Dilithium-14-(2-tert-Butoxycarbonylamino-ethyl)-6,7,9,10,13,14,15,16,18,19,21,22-dodecahydro-12H-5,8,11,17,20,23-hexaoxa-14-aza-benzocycloheneicosen-2,3-dicarboxylat (114)



Verbindung **96** (370 mg, 0.60 mmol) wird in 6 ml THF gelöst und mit 600 µl (1.20 mmol) einer wässrigen 2 N LiOH Lösung versetzt. Nach 2 Tagen Rühren bei Raumtemperatur wird das Lösungsmittel abgezogen und der Rückstand gefriergetrocknet. Man erhält 360 mg (0.60 mmol, 100 %) weißen Feststoff.

¹H- NMR (300 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 1.28 (s, 9 H), 3.41 – 3.48 (m, 8 H), 3.60 (s, 8 H), 3.79 – 3.85 (m, 8 H), 4.17 – 4.24 (m, 4 H), 6.16 (bs, 1 H), 7.77 (s, 2 H); **MS** (ESI-MS, CH₂Cl₂/MeOH + 10 mmol/l NH₄OAc): *m/z* (%) = 587 (100, MH⁺)

2.2. Peptidsynthesen

H-Lys-Gly-Gly-OMe * 2 HCl (116)

Verbindung **122** (210 mg, 0.44 mmol) wird in einer Mischung aus 5 ml Et₂O und 10 ml Dichlormethan gelöst und mit 10 ml HCl gesättigtem Diethylether versetzt. Der Ansatz wird 2 h bei Raumtemperatur gerührt, wobei sich ein Niederschlag ausbildet. Der Rückstand wird abfiltriert, in wenig Wasser aufgenommen und gefriergetrocknet. Man erhält 140 mg (0.40 mmol, 92 % farblosen Feststoff.

¹H- NMR (300 MHz, DMSO-d₆): δ [ppm] = 1.33 – 1.42 (m, 2 H), 1.52 – 1.63 (m, 2 H), 1.71 – 1.78 (m, 2 H), 2.69 – 2.75 (m, 2 H), 3.62 (s, 3 H), 3.73 – 3.93 (m, 5 H), 8.12 (bs, 3 H), 8.47 (bs, 3 H), 8.58 (t, *J* = 5.8 Hz, 1 H), 9.01 (t, *J* = 5.8 Hz, 1 H); **¹³C- NMR** (75 MHz, DMSO-d₆): δ [ppm] = 20.9 (-, 1 C), 26.1 (-, 1 C), 30.0 (-, 1 C), 38.1 (-, 1 C), 40.4 (-, 1 C), 41.6 (-, 1 C), 51.6 (+, 1 C), 51.8 (+, 1 C), 168.7 (C_{quart}, 1 C), 168.8 (C_{quart}, 1 C), 170.0 (C_{quart}, 1 C); **MS** (ESI-MS, H₂O/MeCN): *m/z* (%) = 275 (100, MH⁺), 179 (65, [M + 2 H⁺ + 2 MeCN]²⁺), 158 (85, [M + 2 H⁺ + MeCN]²⁺); **C₁₁H₂₂N₄O₄ * 2 HCl * H₂O**: ber: C 36.17 H 7.17 N 15.34, gef.: C 36.55 H 6.89 N 15.51

H-Gly-Lys-Gly-OMe * 2 HCl (117)

Verbindung **127** (606 mg, 1.26 mmol) wird in 10 ml Dichlormethan gelöst und mit 10 ml HCl gesättigtem Diethylether versetzt. Nach 3 h Rühren bei Raumtemperatur wird das Lösungsmittel vom entstandenen Niederschlag abdekantiert und noch ein mal mit 10 ml Diethylether nachgewaschen. Nach dem Trocknen erhält man 435 mg (1.25 mmol, 99 %) farblosen, hygroskopischen Feststoff.

¹H- NMR (300 MHz, DMSO-d₆): δ [ppm] = 1.31 – 1.44 (m, 2 H), 1.53 – 1.62 (m, 3 H), 1.66 – 1.75 (m, 1 H), 2.70 – 2.76 (m, 2 H), 3.58 – 3.62 (m, 2 H), 3.62 (s, 3 H), 3.82 (d, *J* = 5.9 Hz, 2 H), 4.28 – 4.35 (m, 1 H), 8.13 (bs, 3 H), 8.25 (bs, 3 H), 8.64 (t, *J* = 5.9 Hz, 1 H), 8.75 (d, *J* = 8.1 Hz, 1 H); **¹³C- NMR** (75 MHz, DMSO-d₆): δ [ppm] = 21.9 (-, 1 C), 26.3 (-, 1 C), 31.2 (-, 1 C), 38.2 (-, 1 C), 40.0 (-, 1 C), 40.4 (-, 1 C), 51.6 (+, 1 C), 52.3 (+, 1 C), 165.8 (C_{quart}, 1 C), 170.0 (C_{quart}, 1 C), 171.5 (C_{quart}, 1 C); **MS** (CI-MS, NH₃): *m/z* (%) = 289 (15, M + NH₄⁺), 275 (100, MH⁺),

H-Gly-Gly-Lys-OMe * 2 HCl (118)

Verbindung **129** (390 mg, 0.82 mmol) wird in 10 ml Dichlormethan gelöst und mit 10 ml HCl gesättigtem Diethylether versetzt. Nach 2 h Rühren bei Raumtemperatur wird das Lösungsmittel abrotiert und man erhält 280 mg (0.81 mmol, 99 %) farblosen Feststoff.

¹H- NMR (300 MHz, DMSO-d₆): δ [ppm] = 1.29 – 1.42 (m, 2 H), 1.51 – 1.59 (m, 2 H), 1.63 – 1.72 (m, 2 H), 2.70 – 2.77 (m, 2 H), 3.59 (bs, 2 H), 3.62 (s, 3 H), 3.78 – 3.92 (m, 2 H), 4.19 – 4.26 (m, 1 H), 8.08 (bs, 3 H), 8.22 (bs, 3 H), 8.53 (d, *J* = 7.5 Hz, 1 H), 8.74 (d, *J* = 5.7 Hz, 1 H); **¹³C- NMR** (75 MHz, DMSO-d₆): δ [ppm] = 22.1 (-, 1 C), 26.3 (-, 1 C), 30.0 (-, 1 C), 38.1 (-, 1 C), 40.0 (-, 1 C), 41.5 (-, 1 C), 51.7 (+, 1 C), 51.8 (+, 1 C), 166.1 (C_{quart}, 1 C), 166.4 (C_{quart}, 1 C), 172.3 (C_{quart}, 1 C); **MS** (ESI-MS, H₂O/MeCN): *m/z* (%) = 275 (85, MH⁺), 158 (55, [M + 2 H⁺ + MeCN]²⁺), 138 (100, MH₂²⁺)

Ac-Lys-Lys-OMe (119)

Verbindung **132** (150 mg, 1.26 mmol) wird in 5 ml Dichlormethan gelöst und mit 5 ml HCl gesättigtem Diethylether versetzt. Nach 2.5 h Rühren bei Raumtemperatur wird das Lösungsmittel vom entstandenen Niederschlag abdekantiert und noch ein mal mit 10 ml Diethylether nachgewaschen. Nach dem Trocknen erhält man 105 mg (0.26 mmol, 93 %) farblosen, hygroskopischen Feststoff.

¹H- NMR (300 MHz, DMSO-d₆): δ [ppm] = 1.28 – 1.71 (m, 12 H), 1.84 (s, 3 H), 2.70 – 2.76 (m, 4 H), 3.61 (s, 3 H), 4.15 – 4.30 (m, 2 H), 6.42 (bs, 3 H), 8.07 (bs, 3 H), 8.12 (d, *J* = 8.1 Hz, 1 H), 8.42 (d, *J* = 7.3 Hz, 1 H); **¹³C- NMR** (75 MHz, DMSO-d₆): δ [ppm] = 22.1 (-, 1 C), 22.1 (-, 1 C), 22.39 (+, 1 C), 26.3 (-, 1 C), 26.4 (-, 1 C), 29.8 (-, 1 C), 31.3 (-, 1 C), 38.2 (-, 1 C), 38.3 (-, 1 C), 51.7 (+, 1 C), 51.8 (+, 1 C), 52.0 (+, 1 C), 169.2 (C_{quart}, 1 C), 172.0 (C_{quart}, 1 C), 172.3 (C_{quart}, 1 C); **MS** (ESI-MS, H₂O/MeCN): *e/z* (%) = 367 (18, [MH + HCl]⁺), 331 (100, MH⁺), 207 (30, [MH₂ + 2 MeCN]²⁺), 186 (76, [MH₂ + MeCN]²⁺), 166 (18, MH₂²⁺)

Boc-Lys(Boc)-Gly-Gly-OMe (122)

Boc-Lys(Boc)-OH Dicyclohexylaminsalz (1.06 g, 2.00 mmol) wird mit 365 mg (2.00 mmol) Glycylglycinmethylester Hydrochlorid in einer Mischung aus 7 ml Dichlormethan und 3 ml DMF bei 0°C suspendiert. Dann werden 270 mg (2.00 mmol) HOBt und 413 mg (2.00 mmol) DCC zugegeben und der Ansatz über Nacht bei Raumtemperatur gerührt. Der ausgefallene Feststoff wird abgesaugt, mit Dichlormethan nachgewaschen und die organische Phase mit 10 ml Wasser gewaschen. Nach dem Trocknen über MgSO₄ wird das Lösungsmittel abrotiert. Der Rückstand wird durch Säulenchromatographie an Kieselgel mit Essigsäureethylester als Laufmittel (*R_f* = 0.24) aufgereinigt. Man erhält 900 mg (1.90 mmol, 95 %) farblosen Feststoff.

¹H- NMR (300 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 1.35 – 1.50 (m, 4 H), 1.40 (s, 9 H), 1.42 (s, 9 H), 1.61 – 1.73 (m, 1 H), 1.76 – 1.88 (m, 1 H), 3.06 – 3.12 (m, 2 H), 3.71 (s, 3 H), 3.99 – 4.06 (m, 5 H), 4.80 (bs, 1 H), 5.52 (bs, 1 H), 7.15 (bs, 1 H), 7.29 (bs, 1 H); **¹³C- NMR** (75 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 22.5 (-, 1 C), 28.3 (+, 3 C), 28.5 (+, 3 C), 28.5 (-, 1 C), 29.7 (-, 1 C), 40.3 (-, 1 C), 41.1 (-, 1 C), 42.9 (-, 1 C), 52.3 (+, 1 C), 55.3 (+, 1 C), 80.4 (C_{quart}, 2 C), 156.5 (C_{quart}, 1 C), 169.5 (C_{quart}, 1 C), 170.1 (C_{quart}, 2 C), 173.1 (C_{quart}, 1 C); **MS** (ESI-MS, CH₂Cl₂/MeOH + 10 mmol/l NH₄OAc): *e/z* (%) = 492 (74, M + NH₄⁺), 475 (100, MH⁺), 419 (23, MH⁺ - C₄H₈)

H-Lys(Boc)-OMe (124)

Z-Lys(Boc)-OMe (2.33 g, 5.91 mmol) wird in 30 ml Methanol gelöst, mit einer Spatelspitze 10 % Pd/C versetzt und 3 h bei 10 bar H₂ – Druck und Raumtemperatur gerührt. Die Lösung wird über Celite abfiltriert und das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer abgezogen. Man erhält 1.44 g (5.53 mmol, 94%) des freien Amins als farbloses Öl.

¹H- NMR (300 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 1.32 – 1.59 (m, 5 H), 1.39 (s, 9 H), 1.64 – 1.73 (m, 1 H), 3.04 – 3.10 (m, 2 H), 3.38 – 3.42 (m, 1 H), 3.67 (s, 3 H), 4.66 (bs, 1 H); **¹³C- NMR** (75 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 22.8 (-, 1 C), 28.4 (+, 3 C), 29.8 (-, 1 C), 34.4 (-, 1 C), 40.3 (-, 1 C), 52.0 (+, 1 C), 54.2 (+, 1 C), 79.0 (C_{quart}, 1 C), 156.0 (C_{quart}, 1 C), 176.4 (C_{quart}, 1 C); **MS** (ESI-MS, CH₂Cl₂/MeOH + 10 mmol/l NH₄OAc): e/z (%) = 261 (100, MH⁺), 205 (10, MH⁺ - C₄H₈)

Boc-Gly-Lys(Boc)-OMe (125)

Boc-Gly-OH (640 mg, 3.65 mmol) wird mit 950 mg (3.65 mmol) H-Lys(Boc)-OMe in 10 ml Dichlormethan bei 0°C vorgelegt. Dann werden 493 mg (3.65 mmol) HOBt und 753 mg (3.65 mmol) DCC zugegeben und über Nacht bei Raumtemperatur gerührt. Der Ansatz wird über Celite abfiltriert und der Filtrerrückstand mit Dichlormethan gewaschen. Die organische Phase wird mit einer Mischung aus 20 ml Wasser und 10 ml gesättigter NaCl-Lösung ausgeschüttelt und die wässrige Phase anschließend noch 2 mal mit je 20 ml Dichlormethan. Nach dem Trocknen der vereinigten organischen Phasen über MgSO₄ wird das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer abgezogen. Das Rohprodukt wird durch Säulenchromatographie an Kieselgel mit Essigsäureethylester/Petrolether 4/6 als Laufmittel gereinigt (R_f = 0.35). Man erhält 1.42 g (3.40 mmol, 93 %) farblosen Feststoff.

¹H- NMR (300 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 1.29 – 1.51 (m, 4 H), 1.43 (s, 9 H), 1.45 (s, 9 H), 1.63 – 1.75 (m, 1 H), 1.81 – 1.93 (m, 1 H), 3.05 – 3.11 (m, 2 H), 3.73 (s, 3 H), 3.80 – 3.83 (m, 2 H), 4.56 – 4.63 (m, 1 H), 4.63 (bs, 1 H), 5.22 (bs, 1 H), 6.68 (d, *J* = 8.5 Hz, 1 H); **¹³C- NMR** (75 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 22.3 (-, 1 C), 28.3 (+, 3 C), 28.4 (+, 3 C), 29.5 (-, 1 C), 31.9 (-, 1 C), 40.1 (-, 1 C), 44.5 (-, 1 C), 51.9 (+, 1 C), 52.5 (+, 1 C), 79.2 (C_{quart}, 1 C), 80.4 (C_{quart}, 1 C), 156.1 (C_{quart}, 1 C), 156.1 (C_{quart}, 1 C), 169.3 (C_{quart}, 1 C), 172.6 (C_{quart}, 1 C); **MS** (ESI-MS,

CH₂Cl₂/MeOH + 10 mmol/l NH₄OAc): e/z (%) = 852 (16, 2 M + NH₄⁺), 435 (18, M + NH₄⁺), 418 (100, MH⁺), 362 (20, MH⁺ - C₄H₈)

Boc-Gly-Lys(Boc)-OH (126)

Verbindung **125** (1.13 g, 2.71 mmol) wird in 10 ml Methanol gelöst und mit 5.4 ml (2.71 mmol) einer 2 M LiOH Lösung versetzt. Der Ansatz wird über Nacht bei Raumtemperatur gerührt und anschließend wird das Lösungsmittel abrotiert. Der Rückstand wird mit 50 ml 5 %iger KHSO₄ Lösung und 100 ml CHCl₃ versetzt, die Phasen getrennt und die wässrige Phase noch 2 mal mit je 50 ml CHCl₃ ausgeschüttelt. Die vereinigten organischen Phasen werden über MgSO₄ getrocknet und das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer abgezogen. Man erhält 1.09 g (2.70 mmol, 99.7 %) farblosen Feststoff.

¹H- NMR (300 MHz, DMSO-d₆): δ [ppm] = 1.24 – 1.37 (m, 4 H), 1.36 (s, 9 H), 1.37 (s, 9 H), 1.50 – 1.73 (m, 2 H), 2.84 – 2.90 (t, *J* = Hz, 2 H), 3.56 (d, *J* = 6.5 Hz, 2 H), 4.12 – 4.19 (m, 1 H), 6.77 (t, *J* = 5.5 Hz, 1 H), 6.92 (t, *J* = 6.0 Hz, 1 H), 7.95 (d, *J* = 7.8 Hz, 1 H); ¹³C- NMR (75 MHz, DMSO-d₆): δ [ppm] = 22.5 (-, 1 C), 28.1 (+, 3 C), 28.2 (+, 3 C), 29.0 (-, 1 C), 30.8 (-, 1 C), 39.5 (-, 1 C), 42.8 (-, 1 C), 51.6 (+, 1 C), 77.2 (C_{quart}, 1 C), 77.9 (C_{quart}, 1 C), 155.4 (C_{quart}, 1 C), 155.6 (C_{quart}, 1 C), 169.2 (C_{quart}, 1 C), 173.5 (C_{quart}, 1 C); MS (ESI-MS, CH₂Cl₂/MeOH + 10 mmol/l NH₄OAc): e/z (%) = 421 (45, M + NH₄⁺), 404 (100, MH⁺), 275 (28)

Boc-Gly-Lys(Boc)-Gly-OMe (127)

Verbindung **126** (580 mg, 1.44 mmol) wird mit 181 mg (1.44 mmol) Glycinmethylester Hydrochlorid in 5 ml Dichlormethan suspendiert und mit 269 µl (204 mg, 1.58 mmol) NⁱPr₂Et versetzt. Anschließend werden zunächst 195 mg (1.44 mmol) HOBt und dann 297 mg (1.44 mmol) DCC zugegeben und dann über Nacht bei Raumtemperatur gerührt. Der Ansatz wird über Celite abfiltriert, mit Dichlormethan nachgespült und mit einer Mischung aus 20 ml Wasser und 10 ml gesättigter NaCl Lösung ausgeschüttelt. Die wässrige Phase wird noch 2 mal mit je 20 ml Dichlormethan ausgeschüttelt, die vereinigten organischen Phasen über

MgSO₄ getrocknet und das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer abgezogen. Nach Säulenchromatographie an Kieselgel mit Essigsäureethylester als Laufmittel erhält man 620 mg (1.31 mmol, 91%) farblosen Feststoff.

¹H- NMR (300 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 1.34 – 1.50 (m, 4 H), 1.42 (s, 9 H), 1.42 (s, 9 H), 1.61 – 1.74 (m, 1 H), 1.81 – 1.94 (m, 1 H), 3.05 – 3.10 (m, 2 H), 3.72 (s, 3 H), 3.80 – 3.81 (m, 2 H), 3.99 (d, *J* = 5.6 Hz, 2 H), 4.49 – 4.56 (m, 1 H), 4.87 (bs, 1 H), 5.50 (bs, 1 H), 7.02 (d, *J* = 8.2 Hz, 1 H), 7.26 (t, *J* = 6.4 Hz, 1 H); **¹³C- NMR** (75 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 22.4 (-, 1 C), 28.3 (+, 3 C), 28.4 (+, 3 C), 29.5 (-, 1 C), 31.8 (-, 1 C), 40.1 (-, 1 C), 41.1 (-, 1 C), 44.4 (-, 1 C), 52.3 (+, 1 C), 52.8 (+, 1 C), 79.2 (C_{quart}, 1 C), 80.3 (C_{quart}, 1 C), 156.3 (C_{quart}, 1 C), 156.3 (C_{quart}, 1 C), 170.0 (C_{quart}, 1 C), 170.1 (C_{quart}, 1 C), 172.0 (C_{quart}, 1 C); **MS** (ESI-MS, CH₂Cl₂/MeOH + 10 mmol/l NH₄OAc): *m/z* (%) = 492 (40, M + NH₄⁺), 475 (100, MH⁺), 419 (25, MH⁺ - C₄H₈)

Boc-Gly-Gly-Lys(Boc)-OMe (129)

Boc-Gly-Gly-OH (402 mg, 1.73 mmol) wird mit 450 mg (1.73 mmol) *H-Lys(Boc)-OMe* in 5 ml Dichlormethan vorgelegt und mit 0.30 ml (225 mg, 1.73 mmol) NⁱPr₂Et versetzt, woraufhin sich alles löst. Der Ansatz wird auf 0°C gekühlt und mit 234 mg (1.73 mmol) HOBt und 357 mg (1.73 mmol) DCC versetzt. Nach Rühren über Nacht bei Raumtemperatur wird über Celite abfiltriert, mit Dichlormethan nachgewaschen und die organische Phase mit einer Mischung aus 20 ml Wasser und 10 ml gesättigter NaCl Lösung gewaschen. Die wässrige Phase wird noch 2 mal mit je 20 ml Dichlormethan ausgeschüttelt, die vereinigten organischen Phasen über MgSO₄ getrocknet und das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer abgezogen. Nach Säulenchromatographie an Kieselgel mit Essigsäureethylester → Essigsäureethylester/EtOH 9/1 als Laufmittel [*R_f* (EE/EtOH 9/1) = 0.53] erhält man 500 mg (1.05 mmol, 61 %) farblosen Feststoff.

¹H- NMR (300 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 1.26 – 1.45 (m, 4 H), 1.37 (s, 18 H), 1.58 – 1.70 (m, 1 H), 1.72 – 1.84 (m, 1 H), 2.98 – 3.05 (m, 2 H), 3.65 (s, 3 H), 3.76 – 3.79 (m, 2 H), 3.93 – 3.96 (m, 2 H), 4.41 – 4.48 (m, 1 H), 4.96 (bs, 1 H), 5.70 (bs, 1 H), 7.24 (d, *J* = 7.8 Hz, 1 H), 7.32 (bs, 1 H); **¹³C- NMR** (75 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 22.6 (-, 1 C), 28.3 (+, 3 C), 28.4 (+, 3

C), 29.4 (-, 1 C), 31.2 (-, 1 C), 40.0 (-, 1 C), 42.9 (-, 1 C), 44.2 (-, 1 C), 52.2 (+, 1 C), 52.4 (+, 1 C), 79.1 (C_{quart}, 1 C), 80.3 (C_{quart}, 1 C), 156.2 (C_{quart}, 1 C), 156.5 (C_{quart}, 1 C), 169.1 (C_{quart}, 1 C), 170.5 (C_{quart}, 1 C), 172.7 (C_{quart}, 1 C); **MS** (ESI-MS, CH₂Cl₂/MeOH + 10 mmol/l NH₄OAc): *m/z* (%) = 497 (20, M + Na⁺), 492 (30, M + NH₄⁺), 475 (100, MH⁺), 419 (25, MH⁺ - C₄H₈)

Z-Lys(Boc)-OH (130)

Z-Lys(Boc)-OMe (2.20 g, 5.57 mmol) wird in 20 ml Methanol gelöst und mit 5.5 ml (11 mmol) einer 2 M LiOH Lösung versetzt. Nach Rühren bei Raumtemperatur über Nacht wird der Ansatz mit 5 %iger KHSO₄ Lösung angesäuert und 3 mal mit je 30 ml Dichlormethan ausgeschüttelt. Das Lösungsmittel wird nach dem Trocknen über MgSO₄ am Rotationsverdampfer abgezogen. Man erhält 2.05 g (5.39 mmol, 97 %) farblosen Feststoff.

MS (ESI-MS, CH₂Cl₂/MeOH + 10 mmol/l NH₄OAc): *m/z* (%) = 778 (26, 2 M + NH₄⁺), 398 (47, M + NH₄⁺), 381 (100, MH⁺), 325 (43, MH⁺ - C₄H₈), 281 (14, MH⁺ - C₄H₈ - CO₂)

Z-Lys(Boc)-Lys(Boc)-OMe (131)

Verbindung **124** (540 mg, 2.07 mmol) und **130** (787 mg, 2.07 mmol) werden in 20 ml Dichlormethan vorgelegt, mit 432 mg (2.10 mmol) DCC und 284 mg (2.10 mmol) HOBT versetzt und bei Raumtemperatur über Nacht gerührt. Danach wird über Celite abfiltriert und mit Dichlormethan nachgewaschen. Das Lösungsmittel wird abrotiert und der Rückstand gesäult (Kieselgel, PE/Essigsäureethylester 60/40, R_f = 0.2). Man erhält 1.21 g (1.94 mmol, 94 %) farblosen Feststoff.

¹H- NMR (300 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 1.22 – 1.44 (m, 8 H), 1.36 (s, 9 H), 1.36 (s, 9 H), 1.57 – 1.69 (m, 2 H), 1.73 – 1.83 (m, 2 H), 2.97 – 3.05 (m, 4 H), 3.67 (s, 3 H), 4.14 – 4.21 (m, 1 H), 4.45 – 4.52 (m, 1 H), 4.72 – 4.80 (m, 2 H), 5.04 (s, 2 H), 5.68 (bs, 1 H), 6.83 (bs, 1 H), 7.25 – 7.29 (m, 5 H); **¹³C- NMR** (75 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 22.3 (-, 1 C), 22.4 (-, 1 C), 28.4 (+, 6 C), 29.3 (-, 1 C), 29.5 (-, 1 C), 31.5 (-, 1 C), 32.0 (-, 1 C), 39.8 (-, 1 C), 40.0 (-, 1

C), 52.1 (+, 1 C), 52.5 (+, 1 C), 54.7 (+, 1 C), 67.0 (-, 1 C), 79.2 (C_{quart}, 1 C), 79.3 (C_{quart}, 1 C), 128.1 (+, 2 C), 128.2 (+, 1 C), 128.5 (+, 2 C), 136.2 (C_{quart}, 1 C), 156.3 (C_{quart}, 3 C), 172.0 (C_{quart}, 1 C), 172.6 (C_{quart}, 1 C); **MS** (ESI-MS, CH₂Cl₂/MeOH + 10 mmol/l NH₄OAc): *e/z* (%) = 645 (20, M + Na⁺), 640 (53, M + NH₄⁺), 623 (100, MH⁺), 523 (30, MH⁺ - *Boc*)

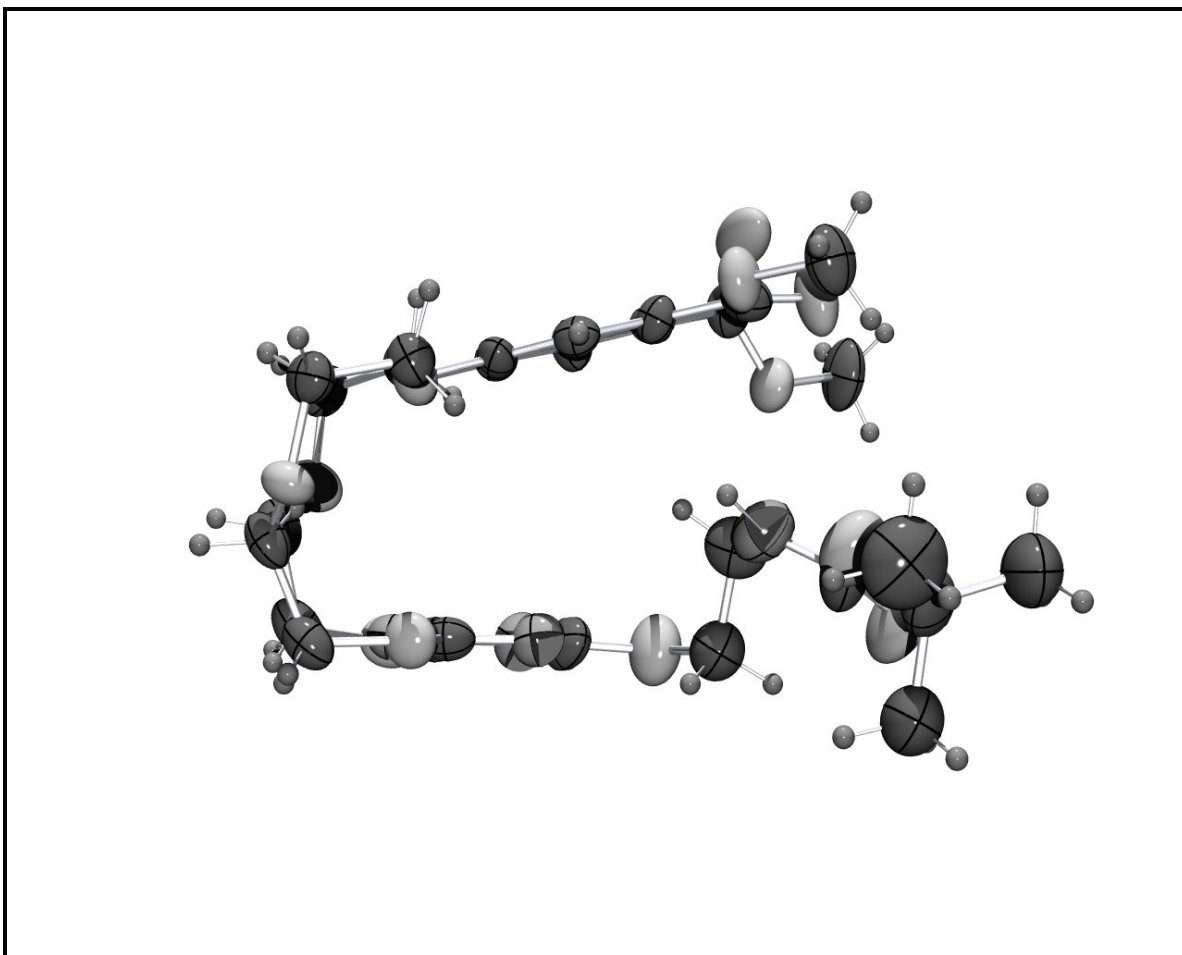
Ac-Lys(Boc)-Lys(Boc)-OMe (132)

Verbindung **131** (450 mg, 0.72 mmol) wird in 20 ml Methanol gelöst, mit 10 % Pd/C versetzt und 3 h bei 10 bar H₂-Druck gerührt. Die Lösung wird über Celite abfiltriert, das Lösungsmittel abrotiert und der Rückstand in 20 ml Dichlormethan aufgenommen. Man versetzt mit 5 ml NⁱPr₂Et und kühlt auf 0°C. Nach Zugabe von 10 ml Ac₂O rührt man über Nacht und lässt den Ansatz dabei auftauen. Die Lösung wird in 20 ml 5 %ige KHSO₄ Lösung gegeben, die Phasen getrennt und die wässrige Phase 2 mal mit je 20 ml Dichlormethan ausgeschüttelt. Die vereinigten organischen Phasen werden mit 20 ml Wasser gewaschen, über MgSO₄ getrocknet und das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer abgezogen. Der Rückstand wird durch Säulenchromatographie an Kieselgel mit Essigsäureethylester als Laufmittel aufgereinigt (R_f = 0.17). Man erhält 323 mg (0.61 mmol, 84 %) eines farblosen Feststoffes.

¹H- NMR (300 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 1.32 – 1.50 (m, 8 H), 1.43 (s, 9 H), 1.44 (s, 9 H), 1.63 – 1.71 (m, 2 H), 1.79 – 1.91 (m, 2 H), 2.01 (s, 3 H), 3.05 – 3.13 (m, 4 H), 3.74 (s, 3 H), 4.43 – 4.56 (m, 1 H), 4.77 (m, 1 H), 4.89 (bs, 2 H), 6.42 – 6.46 (m, 1 H), 6.82 – 6.85 (m, 1 H); **¹³C- NMR** (75 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 22.3 (-, 1 C), 22.5 (-, 1 C), 23.2 (+, 1 C), 28.5 (+, 3 C), 28.5 (+, 3 C), 29.5 (-, 1 C), 29.6 (-, 1 C), 31.5 (-, 1 C), 31.8 (-, 1 C), 39.8 (-, 1 C), 40.0 (-, 1 C), 52.1 (+, 1 C), 52.5 (+, 1 C), 52.9 (+, 1 C), 79.1 (C_{quart}, 1 C), 79.2 (C_{quart}, 1 C), 156.2 (C_{quart}, 2 C), 170.4 (C_{quart}, 1 C), 171.8 (C_{quart}, 1 C), 172.6 (C_{quart}, 1 C); **MS** (ESI-MS, CH₂Cl₂/MeOH + 10 mmol/l NH₄OAc): *e/z* (%) = 584 (10, M + NH₄⁺), 531 (100, MH⁺), 475 (10, MH⁺ - C₄H₈), 431 (14, MH⁺ - *Boc*)

3. Röntgenstrukturen

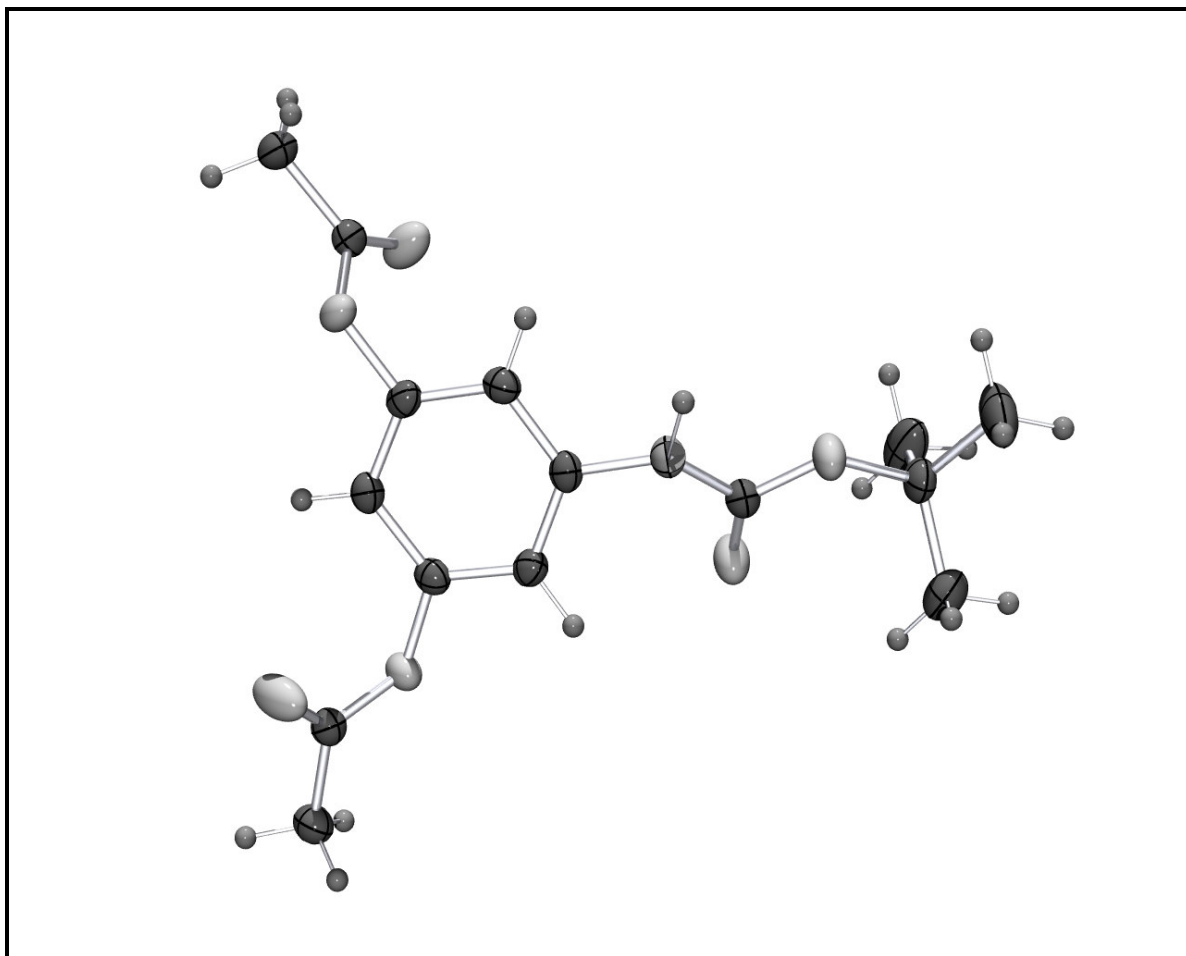
Röntgenstruktur der Verbindung 55



Kristalldaten: $C_{28}H_{38}N_4O_{13}$, $M_r = 638.6$, monoklin, Raumgruppe $P\ 2_1/c$, $a = 1476.92\ (8)$, $b = 1451.36\ (7)$, $c = 1538.54\ (8)$ pm, $\alpha = 90^\circ$, $\beta = 108.676^\circ\ (5)$, $\gamma = 90^\circ$, $V = 3.1243\ (3)$ nm³, $Z = 4$, $D_x = 1.358$ Mg m⁻³, λ (Mo- K_α) = 154.18 pm, $\mu = 0.920$ mm⁻¹, $T = 297$ K, Graphit-Monochromator. Ein farbloser plättchenförmiger Kristall der Ausmaße 0.32 x 0.12 x 0.02 mm wurde an einem Enraf-Nonius CAD-4-Diffraktometer mit der omega-scan Methode vermessen. Eine Gesamtzahl von 5514 Reflexen (5296 unabhängige Reflexe, $R_{int} = 0.0584$) wurde aufgenommen.

Strukturverfeinerung: Der F^2 -Wert wurde mit Hilfe des „Full-matrix least square“-Verfahrens verfeinert. Der „goodness of fit on F^2 “-Wert beträgt für alle Reflexe und 406 Parameter 0.982, der letzte R-Index $R\ 0.0908$ ($wR^2 = 0.1527$). $\Delta\rho_{min} = -0.262$ eÅ⁻³, $\Delta\rho_{max} = 0.242$ eÅ⁻³.

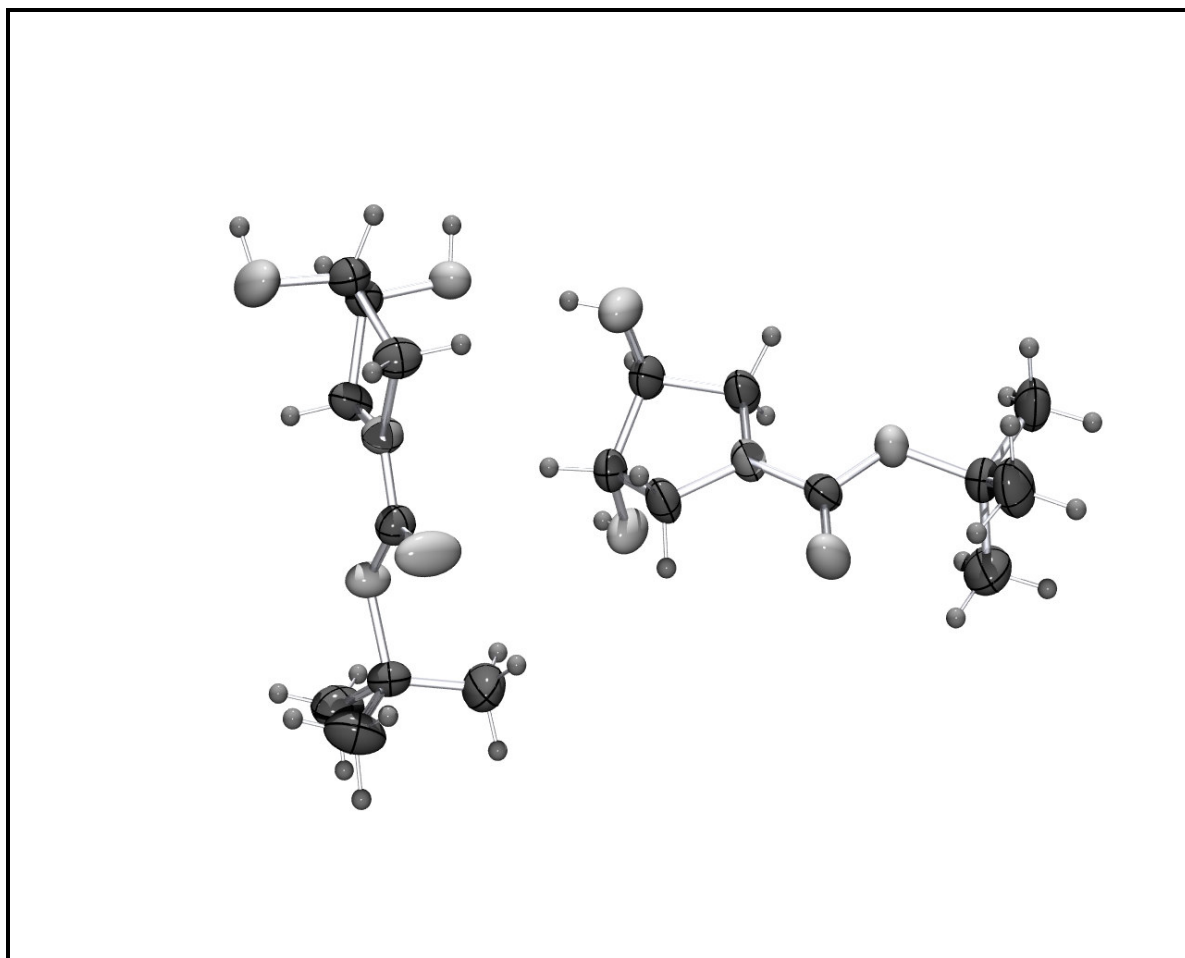
Röntgenstruktur der Verbindung 69



Kristalldaten: $C_{15}H_{19}NO_6$, $M_r = 309.3$, triklin, Raumgruppe $P \bar{1}$, $a = 541.42(4)$, $b = 960.47(8)$, $c = 1507.59(12)$ pm, $\alpha = 89.385(9)^\circ$, $\beta = 87.972(9)^\circ$, $\gamma = 79.770(9)^\circ$, $V = 0.77102(11)$ nm³, $Z = 2$, $D_x = 1.332$ Mg m⁻³, λ (Mo- K_α) = 71.073 pm, $\mu = 0.103$ mm⁻¹, $T = 173$ K, Graphit-Monochromator. Ein farbloser prismatischer Kristall der Ausmaße 0.28 x 0.12 x 0.08 mm wurde an einem STOE-IPDS-Diffraktometer mit der Rotationsmethode vermessen. Eine Gesamtzahl von 6374 Reflexen (2745 unabhängige Reflexe, $R_{int} = 0.0226$) wurde aufgenommen.

Strukturverfeinerung: Der F^2 -Wert wurde mit Hilfe des „Full-matrix least square“-Verfahrens verfeinert. Der „goodness of fit on F^2 “-Wert beträgt für alle Reflexe und 251 Parameter 1.049, der letzte R-Index R 0.0414 ($wR^2 = 0.1140$). $\Delta\rho_{min} = -0.268$ eÅ⁻³, $\Delta\rho_{max} = 0.463$ eÅ⁻³.

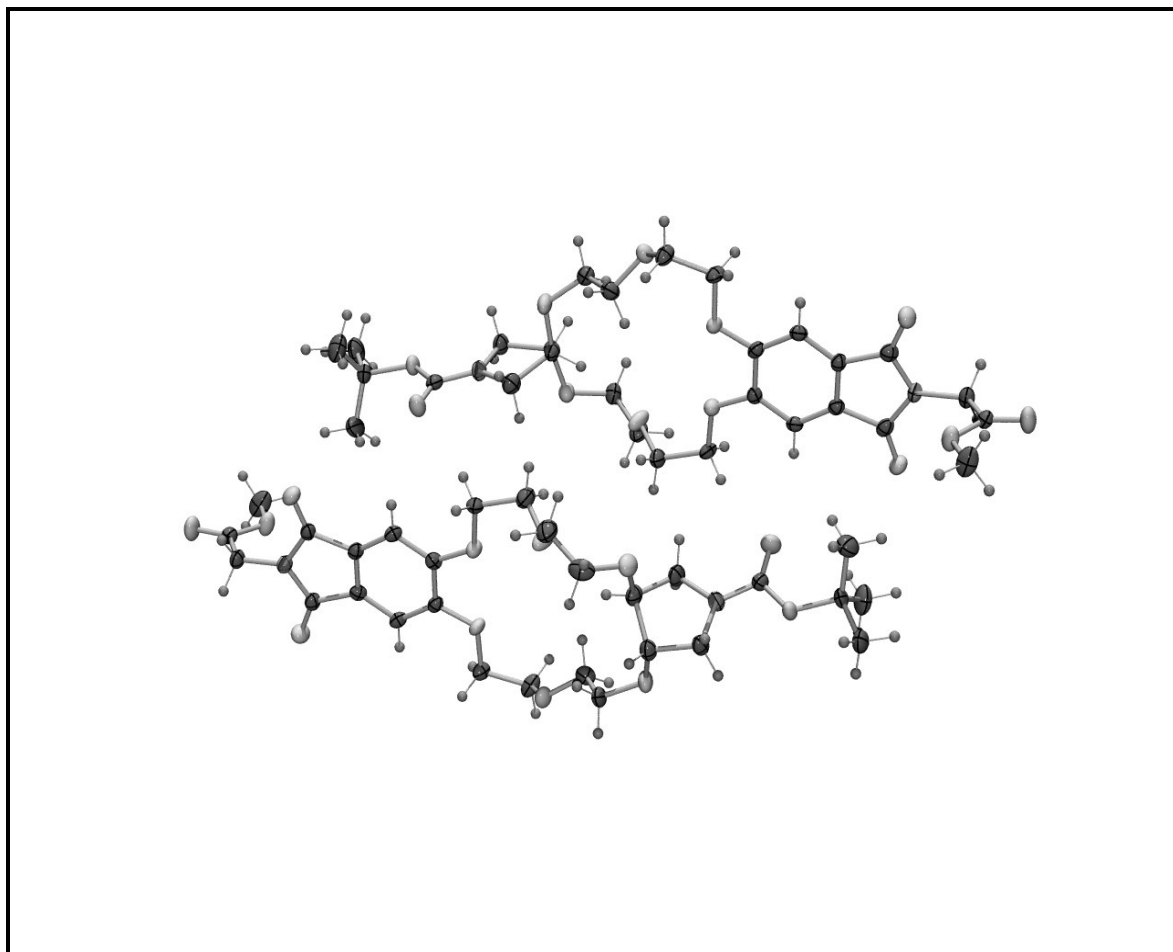
Röntgenstruktur der Verbindung 94



Kristalldaten: $\text{C}_9\text{H}_{17}\text{NO}_4$, $M_r = 203.24$, monoklin, Raumgruppe $P\ 2_1$, $a = 601.66(5)$, $b = 2101.00(12)$, $c = 893.45(7)$ pm, $\alpha = 90^\circ$, $\beta = 105.022(9)^\circ$, $\gamma = 90^\circ$, $V = 1.09080(15)$ nm³, $Z = 4$, $D_x = 1.238$ Mg m⁻³, $\lambda = 71.073$ pm, $\mu = 0.097$ mm⁻¹, $T = 173$ K, Graphit-Monochromator. Ein farbloser plättchenförmiger Kristall der Ausmaße 0.60 x 0.40 x 0.12 mm wurde an einem ENRAF Nonius CAD4 Diffraktometer mit der W-Scan Methode vermessen. Eine Gesamtzahl von 7849 Reflexen (3614 unabhängige Reflexe, $R_{\text{int}} = 0.0382$) wurde aufgenommen.

Strukturverfeinerung: Der F^2 -Wert wurde mit Hilfe des „Full-matrix least square“-Verfahrens verfeinert. Der „goodness of fit on F^2 “-Wert beträgt für alle Reflexe und 269 Parameter 1.082, der letzte R-Index R 0.0356 ($wR^2 = 0.0970$). $\Delta\rho_{\text{min}} = -0.131$ eÅ⁻³, $\Delta\rho_{\text{max}} = 0.259$ eÅ⁻³.

Röntgenstruktur der Verbindung 89



Kristalldaten: $C_{28}H_{38}N_2O_{12}$, $M_r = 594.60$, triklin, Raumgruppe $P\ 1$, $a = 996.30(10)$, $b = 1048.92(10)$, $c = 1456.54(13)$ pm, $\alpha = 98.719(11)^\circ$, $\beta = 93.280(11)^\circ$, $\gamma = 99.850(11)^\circ$, $V = 1.4770(3)$ nm³, $Z = 2$, $D_x = 1.337$ Mg m⁻³, $\lambda = 71.073$ pm, $\mu = 0.105$ mm⁻¹, $T = 173$ K, Graphit-Monochromator. Ein farbloser prismatischer Kristall der Ausmaße 0.50 x 0.26 x 0.20 mm wurde an einem ENRAF Nonius CAD4 Diffraktometer mit der W-Scan Methode vermessen. Eine Gesamtzahl von 14741 Reflexen (10391 unabhängige Reflexe, $R_{int} = 0.0272$) wurde aufgenommen.

Strukturverfeinerung: Der F^2 -Wert wurde mit Hilfe des „Full-matrix least square“-Verfahrens verfeinert. Der „goodness of fit on F^2 “-Wert beträgt für alle Reflexe und 758 Parameter 0.840, der letzte R-Index R 0.0323 ($wR^2 = 0.0644$). $\Delta\rho_{min} = -0.185$ eÅ⁻³, $\Delta\rho_{max} = 0.154$ eÅ⁻³.

E Abkürzungsverzeichnis

Abb.	Abbildung
AcOH	Essigsäure
Ac ₂ O	Essigsäureanhydrid
Bn	Benzyl
Boc	<i>tert</i> -Butoxycarbonyl
ber.	berechnet
c	Konzentration
d	Tag(e)
DCC	Dicyclohexylcarbodiimid
DCHA	Dicyclohexylamin
DCM	Dichlormethan
DIEA	(<i>N,N</i>)-Diisopropylethylamin
DMAP	Dimethylaminopyridin
DMF	<i>N,N</i> -Dimethylformamid
DMSO	Dimethylsulfoxid
EDC * HCl	<i>N</i> -(3-Dimethylaminopropyl)- <i>N'</i> -ethyl-carbodiimid Hydrochlorid
EI	Ionenstossionisation
EE	Essigsäureethylester
eq.	Äquivalent(e)
ESI	Elektrosprayionisation
EtOH	Ethanol
FAB	Fast-Atom Bombardement
Flu	Fluoreszenz-Spektroskopie
Gly	Glycin
gef.	gefunden
h	Stunde(n)
HEPES	<i>N</i> -2-Hydroxyethylpiperazin- <i>N'</i> -2-ethansulfonsäure
HOAt	1-Hydroxy-7-azabenzotriazol
HOBt	1-Hydroxybenzotriazol
IR	Infrarot-Spektroskopie/-Spektrum
ITC	Isotherme Titrationskalorimetrie

<i>J</i>	Kopplungskonstante
KEAS	Kronenetheramino­säure(n)
Lys	Lysin
M	Molekülion
Me	Methyl
min	Minuten
MS	Massen-Spektrometrie/-Spektrum
MeOH	Methanol
NMR	Kernresonanzspektroskopie
NOE	Kern-Overhauser-Effekt
PE	Petrolether 40/60
quant.	quantitative Umsetzung
RT	Raumtemperatur
σ	relative Standardabweichung
Schmp.	Schmelzpunkt
Tab.	Tabelle
TFA	Trifluoressigsäure
THF	Tetrahydrofuran
THP	Tetrahydropyran­yl
TMS	Tetramethylsilan
Tos	<i>p</i> -Toluol-sulfonyl
Tris	Tris(hydroxymethyl)-aminomethan
UV	Ultraviolett-Spektroskopie/-Spektrum
Vis	sichtbarer Spektralbereich
X	Molenbruch
X-Ray	Röntgenstrukturanalyse

F Literaturverzeichnis

- 1) Rüdiger, V.; Schneider, H.-J.; Solov'ev, V. P.; Kazachenko, V. P.; Raevsky, O. A. *European Journal of Organic Chemistry* **1999**, 1847-1856.
- 2) Hibbert, F.; Emsley, J. *Advances in Physical Organic Chemistry* **1990**, 26, 255.
- 3) Sunner, J.; Nishizawa, K.; Kebarle, P. *Journal of Physical Chemistry* **1981**, 85, 1814-1820.
- 4) Burley, S. K.; Petsko, G. A. *Advances in Protein Chemistry* **1988**, 39, 125.
- 5) Eblinger, F.; Schneider, H.-J. *Angewandte Chemie, International Edition* **1998**, 37, 826.
- 6) Pedersen, C. J. *Journal of the American Chemical Society* **1967**, 89, 7017-7036.
- 7) Timko, J. M.; Moore, S. S.; Walba, D. M.; Hiberty, P. C.; Cram, D. J. *Journal of the American Chemical Society* **1977**, 99, 4207-4219.
- 8) Bradshaw, J. S.; Izatt, R. M.; Bordunov, A. V.; Zhu, C. Y.; Hathaway, J. K. *Comprehensive Supramolecular Chemistry* **1996**, Vol. 1, 35-95.
- 9) Gokel, G. W.; Abel, E. *Comprehensive Supramolecular Chemistry* **1996**, Vol. 1, 511-535.
- 10) Cantrill, S. J.; Fulton, D. A.; Heiss, A. M.; Pease, A. R.; Stoddart, J. F.; White, A. J. P.; Williams, D. J. *Chemistry--A European Journal* **2000**, 6, 2274-2287.
- 11) Tsubaki, K.; Tanaka, H.; Kinoshita, T.; Fuji, K. *Tetrahedron* **2002**, 58, 1679-1684.
- 12) Kyba, E. B.; Koga, K.; Sousa, L. R.; Siegel, M. G.; Cram, D. J. *Journal of the American Chemical Society* **1973**, 95, 2692-2693.
- 13) Fuji, K.; Tsubaki, K.; Tanaka, K.; Hayashi, N.; Otsubo, T.; Kinoshita, T. *Journal of the American Chemical Society* **1999**, 121, 3807-3808.
- 14) Tsubaki, K.; Kusumoto, T.; Hayashi, N.; Nuruzzaman, M.; Fuji, K. *Organic Letters* **2002**, 4, 2313-2316.
- 15) Voyer, N.; Deschenes, D.; Bernier, J.; Roby, J. *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* **1992**, 664.
- 16) Lein, G. M.; Cram, D. J. *Journal of the American Chemical Society* **1985**, 107, 448-455.
- 17) Schneider, H.-J.; Yatsimirsky, A. *Principles and Methods in Supramolecular Chemistry*; John Wiley & Sons Ltd.: Chichester, 2000.
- 18) Hossain, M. A.; Schneider, H.-J. *Journal of the American Chemical Society* **1998**, 120, 11208-11209.
- 19) Sasaki, S.-i.; Hashizume, A.; Citterio, D.; Fujii, E.; Suzuki, K. *Tetrahedron Letters* **2002**, 43, 7243-7245.
- 20) Tsubaki, K.; Morimoto, T.; Otsubo, T.; Fuji, K. *Organic Letters* **2002**, 4, 2301-2304.

- 21) Zheng, Q.-Y.; Chen, C.-F.; Huang, Z.-T. *Journal of Inclusion Phenomena and Macrocyclic Chemistry* **2003**, *45*, 27-34.
- 22) Ballistreri, F. P.; Notti, A.; Pappalardo, S.; Parisi, M. F.; Pisagatti, I. *Organic Letters* **2003**, *5*, 1071-1074.
- 23) Mark Werner, T. S., Paolo Finocchiaro, Salvatore Failla, Giuseppe Consiglio *Organic Letters* **2000**, *2*, 605-608.
- 24) Grawe, T.; Schrader, T.; Finocchiaro, P.; Consiglio, G.; Failla, S. *Organic Letters* **2001**, *3*, 1597-1600.
- 25) Molt, O.; Schrader, T. *Angewandte Chemie* **2003**, *115*, 5667-5671.
- 26) Rebek, J., Jr.; Nemeth, D. *Journal of the American Chemical Society* **1985**, *107*, 6738-6739.
- 27) Jon, S. Y.; Kim, J.; Kim, M.; Park, S.-H.; Jeon, W. S.; Heo, J.; Kim, K. *Angewandte Chemie, International Edition* **2001**, *40*, 2116-2119.
- 28) Chin, J.; Walsdorff, C.; Stranix, B.; Oh, J.; Chung, H. J.; Park, S.-M.; Kim, K. *Angewandte Chemie, International Edition* **1999**, *38*, 2756-2759.
- 29) Ahn, K. H.; Kim, S.-G.; Jung, J.; Kim, K.-H.; Kim, J.; Chin, J.; Kim, K. *Chemistry Letters* **2000**, 170-171.
- 30) Kim, S.-G.; Kim, K.-H.; Kim, Y. K.; Shin, S. K.; Ahn, K. H. *Journal of the American Chemical Society* **2003**, *125*, 13819-13824.
- 31) Tsubaki, K.; Mukoyoshi, K.; Morikawa, H.; Kinoshita, T.; Fuji, K. *Chirality* **2002**, *14*, 713-715.
- 32) Biron, E.; Voyer, N.; Meillon, J.-C.; Cormier, M.-E.; Auger, M. *Biopolymers* **2001**, *55*, 364-372.
- 33) Voyer, N.; Robitaille, M. *Journal of the American Chemical Society* **1995**, *117*, 6599-6600.
- 34) Kolb, H. C.; Finn, M. G.; Sharpless, K. B. *Angewandte Chemie, International Edition* **2001**, *40*, 2004-2021.
- 35) Otsuki, J.; Yamagata, T.; Ohmuro, K.; Araki, K.; Takido, T.; Seno, M. *Bulletin of the Chemical Society of Japan* **2001**, *74*, 333-337.
- 36) Anderson, D. R.; Koch, T. H. *Journal of Organic Chemistry* **1978**, *43*, 2726-2728.
- 37) Drager, A. S.; O'Brien, D. F. *Journal of Organic Chemistry* **2000**, *65*, 2257-2260.
- 38) Murai, S.; Ryu, I.; Kadono, Y.; Katayama, H.; Kondo, K.; Sonoda, N. *Chemistry Letters* **1977**, 1219-1222.
- 39) Walker, M. A. *Journal of Organic Chemistry* **1995**, *60*, 5352-5355.

- 40) Thurston, J. T.; Schaefer, F. C.; Dudley, J. R.; Holm-Hansen, D. *Journal of the American Chemical Society* **1951**, 73, 2992-2996.
- 41) Reddy, P. Y.; Kondo, S.; Toru, T.; Ueno, Y. *Journal of Organic Chemistry* **1997**, 62, 2652-2654.
- 42) Murray, R. W.; Iyanar, K.; Chen, J.; Wearing, J. T. *Journal of Organic Chemistry* **1996**, 61, 8099-8102.
- 43) Arakawa, Y.; Yoshifuji, S. *Chemical & Pharmaceutical Bulletin* **1991**, 39, 2219-24.
- 44) Piatek, P.; Gruza, M. M.; Jurczak, J. *Tetrahedron: Asymmetry* **2001**, 12, 1763-1769.
- 45) Bradshaw, J. S.; Izatt, R. M.; Bordunov, A. V.; Zhu, C. Y.; Hathaway, J. K. *Crown Ethers*; Atwood, J. L., Davies, J. E. D., Macnicol, D. D. and Vögtle, F., Ed.; Elsevier Science Ltd.: Oxford, 1996; Vol. 1, pp 35-95.
- 46) Schneider, H.-J.; Yatsimirsky, A. *Principles and Methods in Supramolecular Chemistry*; John Wiley & Sons Ltd.: Chichester, 2000.
- 47) Ellenbogen, E. *Journal of the American Chemical Society* **1952**, 74, 5198-201.
- 48) Hünig, S.; Märkl, G.; Sauer, J. *Einführung in die apparativen und spektroskopischen Methoden in der Organischen Chemie* Regensburg, Würzburg, 1989.
- 49) Autorenkollektiv *Organikum*; VEB Deutscher Verlag der Wissenschaften: Berlin, 1988; Vol. 17. Auflage.
- 50) Ashton, P. R.; Huff, J.; Menzer, S.; Parsons, I. W.; Preece, J. A.; Stoddart, J. F.; toley, M. S.; White, A. J. P.; Williams, D. J. *Chemistry--A European Journal* **1996**, 2, 31-44.
- 51) Hunter, C.; Jackson, R. F. W.; Rami, H. K. *Perkin 1* **2000**, 219-223.
- 52) Hirt, R.; Nidecker, H.; Berchtold, R. *Helvetica Chimica Acta* **1950**, 33, 1365-9.
- 53) Eisenfuhr, A.; Arora Paramjit, S.; Sengle, G.; Takaoka Leo, R.; Nowick James, S.; Famulok, M. *Bioorganic & medicinal chemistry* **2003**, 11, 235-249
- 54) Wuenschell, G. E.; Tetreau, C.; Lavalette, D.; Reed, C. A. *Journal of the American Chemical Society* **1992**, 114, 3346-3355.
- 55) Boerjesson, L.; Welch, C. J. *Acta Chemica Scandinavica* **1991**, 45, 621-626.
- 56) Nagel, U.; Kinzel, E. *Chemische Berichte* **1986**, 119, 3326-3343.
- 57) Kang, Y. K.; Shin, K. J.; Yoo, K. H.; Seo, K. J.; Park, S. Y.; Kim, D. J.; Park, S. W. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* **1999**, 9, 2385-2390.
- 58) Nagel, U. *Angewandte Chemie* **1984**, 96, 425-426.
- 59) Nakamura, J.; Asai, K.; Nishida, K.; Sasaki, H. *Journal of Pharmacy and Pharmacology* **1992**, 44, 713-716.

- 60) Yoon, U. C.; Cho, S. J.; Lee, Y.-J.; Mancheno, M. J.; Mariano, P. S. *Journal of Organic Chemistry* **1995**, *60*, 2353-2360.
- 61) van Eis, M. J.; Seiler, P.; Muslinkina, L. A.; Badertscher, M.; Pretsch, E.; Diederich, F.; Alvarado, R. J.; Echegoyen, L.; Nunez, I. P. *Helvetica Chimica Acta* **2002**, *85*, 2009-2055.
- 62) Gawronski, J.; Gawronska, K.; Brzostowska, M. *Tetrahedron Letters* **1999**, *40*, 1191-1194.

G Anhang

Veröffentlichungen in Fachzeitschriften

- *Synthesis and structure of new macrocyclic bisindolylmaleimides*
Mandl, C.; Zabel, M.; König, B.; *Collection of Czechoslovak Chemical Communications* 2003, 68, 899-906
- *Chemistry in motion - Unidirectional rotating molecular motors*
Mandl, C. P.; König, B.; *Angewandte Chemie, International Edition* **2004**, 3, 1622-1624

Vorträge

- *Untersuchung der photophysikalischen Eigenschaften einer farbenfrohen Wirkstoffklasse*
Weihnachtskolloquium des Instituts für Organische Chemie der Universität Regensburg, Regensburg, **2000**
- *Fluorescent Crown Ether Amino Acids for Peptide Recognition*
Workshop des Graduiertenkollegs Medizinische Chemie, Regensburg, **2003**
- *Fluorescent Crown Ether Amino Acids for Peptide Recognition*
Prague – Regensburg Supramolecular Chemistry Workshop, Prag, **2003**

Posterpräsentationen

- *Switchable Peptide-Based Pseudorotaxanes*
ESF EuroConference on Molecular Rods, Wires and Switches, San Feliu de Guixols, **2002**
- *Fluorescent crown ether amino acids as building blocks for synthetic receptors*
Synthetic Receptors Conference, Lissabon, **2003**

Lebenslauf

Persönliche Daten

Name: Christian Peter Mandl
Familienstand: ledig
Geburtsdatum, -ort: 29.03.75, Straubing

Schulische Bildung

09.81 – 07.85 Volksschule Rain
09.85 – 07.94 Ludwigsgymnasium Straubing
07.94 Abitur am Ludwigsgymnasium Straubing

Zivildienst

09.94 – 10.95 Elisabethkrankenhaus Straubing, Abteilung EKG

Studium

11.95 – 12.00 Universität Regensburg, Studiengang Chemie (Diplom)
11.97 Vordiplomsprüfung
11.97 – 03.00 Hauptstudium, Wahlfach: Technische Chemie
03.00 Diplomprüfung
04.00 – 12.00 Diplomarbeit am Lehrstuhl von Prof. Dr. B. König,
Thema: „Synthese und Untersuchung der
photophysikalischen Eigenschaften neuer
Bisindolylmaleimide“
07.00 – 08.00 Forschungsaufenthalt an der Universität von Amsterdam,
Arbeitsgruppe Prof. Luisa DeCola
02.01 – 05.04 Promotionsstudium am Lehrstuhl von Prof. Dr. B. König
11.01 – 07.02 Zusatzstudium „Internationale Handlungskompetenz“,
Uni & FH Regensburg
04.02 – 05.04 Graduiertener des Graduiertenkollegs „Medizinische
Chemie“ an der Universität Regensburg

Praktika

06.98	Dechema e.V., Seminar Elektrochemie
09.98 – 10.98	Forschungszentrum Karlsruhe
07.99 – 10.99	Procter & Gamble European Service GmbH, Schwalbach am Taunus

Studienbegleitende Aktivitäten

11.96 – 01.00	Mitarbeit in der Fachschaft Chemie
10.98 – 10.99	gewählter Studentenvertreter
11.98 – 07.99	Studentische Hilfskraft